



MARCO AURÉLIO TRAMONTIN DA SILVA

CONTROLE DE *Quesada gigas* (HEMIPTERA: CICADIDAE) PELA
APLICAÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS E
COMPATIBILIDADE COM ALGUNS PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS
EM CAFEIEIRO

LAVRAS – MG
2011

MARCO AURÉLIO TRAMONTIN DA SILVA

CONTROLE DE *Quesada gigas* (HEMIPTERA: CICADIDAE) PELA
APLICAÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS E
COMPATIBILIDADE COM ALGUNS PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS
EM CAFEIEIRO

Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Agronomia,
área de concentração em Entomologia, para a
obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Alcides Moino Júnior

LAVRAS – MG
2011

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Silva, Marco Aurélio Tramontin da.

Controle de *Quesada gigas* (Hemiptera: Cicadidae) pela aplicação de nematoides entomopatogênicos e compatibilidade com alguns produtos fitossanitários em cafeeiro / Marco Aurélio Tramontin da Silva. – Lavras : UFLA, 2012.

89 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Alcides Moino Junior.

Bibliografia.

1. Cafeicultura. 2. Cigarra-do-cafeeiro. 3. Controle microbiano. 4. Praga-subterrânea. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 595.754

MARCO AURÉLIO TRAMONTIN DA SILVA

CONTROLE DE *Quesada gigas* (HEMIPTERA: CICADIDAE) PELA
APLICAÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS E
COMPATIBILIDADE COM ALGUNS PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS
EM CAFEIEIRO

Tese apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agronomia, área de concentração em
Entomologia, para a obtenção do título de
Doutor.

APROVADA em 29 de julho de 2011

Prof. Dr. Luis Cláudio Paterno Silveira
LANCASTER UNIVERSITY

Prof. Dr. Jair Campos de Moraes
UFLA

Dr^a. Lenira Costa Viana Santa-Cecília
EPAMIG

Prof^a Dr^a. Vanessa Andaló Mendes
de Carvalho
CEFET-MG (BambuÍ)

Prof. Dr. Alcides Moino Júnior
UFLA
(Orientador)

LAVRAS – MG
2011

Agradecimentos

A Deus, por iluminar minha mente.

À Universidade Federal de Lavras – UFLA, pela oportunidade de aprender um pouco mais sobre a Entomologia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa.

Ao orientador Prof. Dr. Alcides Moino Júnior, pela orientação, compreensão, paciência e amizade prestada durante o período doutoral.

Aos professores do Departamento de Entomologia – DEN, por todo o ensinamento.

Aos amigos do laboratório de Patologia e agregados, Marlon, Natália, Fabiano, Cristiane e Flávio, que com certeza ajudaram muito durante todo este período.

Ao Lucas, pela amizade, convivência e conselhos estatísticos e serviços prestados com muito apreço aos infindáveis experimentos de campo com cigarras do cafeeiro.

Ao Maurício, que demonstrou muita amizade e que me ajudou muito durante os dois anos finais do meu doutorado auxiliando-me nas buscas de áreas experimentais.

A minha família, por estarem presentes, mesmo que distantes, e por sempre apoiarem as minhas decisões.

A todos, que direta ou indiretamente auxiliaram de alguma forma para a confecção deste trabalho.

Muito obrigado a todos.

Resumo

A cafeicultura no Brasil é bastante expressiva, sendo responsável por grande parte da produção mundial. Dentre as espécies de cigarras-do-cafeeiro, destaca-se *Quesada gigas*, considerada uma das principais pragas, por apresentar maior tamanho e causar danos mais sérios às plantas. Como forma de controle destes insetos ainda é muito utilizado o controle químico, estando disponíveis e registrados para a cultura diversos produtos, porém com efeitos residuais e contaminantes indiscutíveis, o que corrobora a utilização de métodos diversificados e que amenizem de forma sustentável as aplicações desses biocidas, como os nematoides entomopatogênicos. Dessa forma, os objetivos do presente trabalho foram analisar a persistência de nematoides entomopatogênicos dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*, visando o controle de ninfas de cigarras-do-cafeeiro, testar a eficiência de diferentes métodos de aplicação em condições de campo e verificar se há compatibilidade entre os produtos químicos utilizados e os nematoides. Foi conduzido um experimento em cafezal no município de Lavras/MG com a cultivar Catucaí, em plantas adultas de seis anos de idade, com delineamento em blocos casualizados, constando de quatro blocos com seis tratamentos, sendo seis plantas em cada parcela. Os resultados demonstraram que os nematoides entomopatogênicos são persistentes no ambiente, sendo recuperados em trinta e sessenta dias após aplicação, e que o nematoide entomopatogênico *Heterorhabditis* sp. JPM4 foi o mais persistente em campo, sob condições adversas. O segundo experimento foi conduzido com plantas adultas de quinze anos de idade, em área experimental isenta de inseticidas químicos durante cerca de dez anos, com delineamento em blocos casualizados, constando de quatro blocos com sete tratamentos, sendo seis plantas em cada parcela. Os resultados obtidos reforçaram as características de eficiência e persistência obtidas no experimento anterior, em relação ao nematoide entomopatogênico *Heterorhabditis* sp. JPM4. Por fim, foi abordado o aspecto relacionado à

compatibilidade dos produtos químicos fitossanitários utilizados na cultura do cafeeiro com os nematoides entomopatogênicos, em experimento segundo o protocolo da IOBC, avaliando-se a viabilidade e a infectividade dos nematoides expostos a soluções aquosas dos produtos. Nenhum dos produtos fitossanitários afetou de forma significativa a infectividade dos nematoides, sendo que os produtos Impact 125® e Alto 100® foram os que mais prejudicaram a viabilidade dos nematoides entomopatogênicos.

Palavras-chave: Controle microbiano; Cafeicultura; Praga subterrânea.

Abstract

The coffee production in Brazil is quite significant, accounting for much of the world production. Among the species of cicadas, *Quesada gigas* stands out, considered one of the main pests, due to its greater size and causing more serious damage to plants. As a way of controlling these insects is still widely used chemical control with several products registered and available for the culture, but with undeniable contaminants and residual effects, which supports the use of diverse and sustainably methods to mitigate the application of biocides, such as entomopathogenic nematodes. Thus, the aims of this study were to analyze the persistence of entomopathogenic nematodes of the genera *Heterorhabditis* and *Steinernema*, aiming to control the cicada nymphs, to test the efficiency of different methods of application in the field and check for compatibility between the chemicals used and the nematodes. An experiment was conducted on coffee trees in the city of Lavras/MG with Catucaí coffee adult plants of six years old, with randomized block design consisting of four blocks with six treatments, six plants in each plot. The results demonstrated that entomopathogenic nematodes are persistent in the environment, being recovered until 30 and 60 days after application, and the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis* sp. JPM4 was more persistent in the field under adverse conditions. The second experiment was conducted with adult plants of 15 years old in the experimental area free of chemical insecticides for about 10 years, on a randomized block design consisting of four blocks with seven treatments, six plants in each plot. The results reinforced the persistence and efficiency characteristics obtained in the previous experiment, in relation to the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis* sp. JPM4. Finally, it was evaluated aspect related to the compatibility of chemical pesticides used in coffee plantations with entomopathogenic nematodes, in an experiment according to the protocol of the IOBC, evaluating the viability and infectivity of nematodes exposed to aqueous

solutions of products. None of the pesticides affected significantly the infectivity of the nematodes, and the products and Impact 125® and Alto 100® were that most damaged the viability of entomopathogenic nematodes.

Keywords: Microbial control; Coffee; Subterranean pest.

SUMÁRIO

1	Introdução geral.....	12
	CAPÍTULO 1	14
1	Referencial teórico	15
1.1	A cultura do cafeeiro: no âmbito nacional e internacional	15
1.2	Principais insetos-praga do cafeeiro.....	15
1.3	<i>Quesada gigas</i>	16
1.4	Aspectos bioecológicos.....	17
1.5	Danos.....	19
1.6	Controle da cigarra-do-cafeeiro.....	19
1.7	Nematoides Entomopatogênicos.....	22
1.8	Aspectos biológicos.....	22
1.9	Ciclo de vida e associação com bactérias.....	23
1.10	Importância e casos de sucesso com nematoides entomopatogênicos.....	24
1.11	Compatibilidade de produtos químicos com nematoides entomopatogênicos.....	26
2	Referências.....	30
	CAPÍTULO 2	35
	RESUMO	36
	ABSTRACT	38
1	Introdução.....	39
2	Material e métodos.....	40
3	Resultados e discussão.....	44
4	Conclusões.....	50
5	Referências.....	51
	CAPÍTULO 3	53
	RESUMO	54
	ABSTRACT	56
1	Introdução.....	58
2	Material e métodos.....	59
3	Resultados e discussão.....	63
4	Conclusões.....	70
5	Referências.....	71
	CAPÍTULO 4	74
	RESUMO	75
	ABSTRACT	77

1	Introdução.....	78
2	Material e métodos.....	79
3	Resultados e discussão.....	83
4	Conclusões.....	86
5	Referências.....	87

1 Introdução geral

O Brasil detém a maior produção mundial de cafeeiro arábica na safra 2009/2010 com aproximadamente 39 milhões de sacas. Os Estados que mais se destacam neste âmbito, concentram-se na região Sudeste do Brasil (Minas Gerais (19,62 milhões de sacas), Espírito Santo (10,11 milhões de sacas) e São Paulo (3,28 milhões de sacas)) (AGRIANUAL, 2011).

Os principais insetos-praga que atacam o cafeeiro são: a broca-do-cafeeiro (*Hypothenemus hampei*) (Coleoptera: Scolytidae); o bicho mineiro (*Leucoptera coffeella*) (Lepidoptera: Lyonetiidae), e a cigarra-do-cafeeiro (Hemiptera: Cicadidae) a qual se destaca por atacar as raízes, o que a torna de difícil controle por ter este hábito críptico, ocorrendo mais frequentemente a espécie *Quesada gigas*, com registros acerca de 80% da região sul mineira.

A espécie *Quesada gigas* é caracterizada pelo tamanho avantajado em relação a outras espécies de cigarras, constituindo-se, dentre todas as espécies, como a mais prejudicial e de maior disseminação (MACCAGNAN; MARTINELLI, 2004).

Os danos são causados pelas ninfas que após a eclosão na parte aérea da planta (galhos), migram para as raízes, onde permanecem sugando a seiva. O ataque registra-se pelas plantas apresentarem danos de parte aérea como clorose, queda precoce das folhas e danos nas raízes, ocasionando assim definhamento da planta e redução da produtividade, podendo em alguns casos levar à perda total da lavoura (REIS; SOUZA, 1991).

Os nematoides entomopatogênicos são organismos que apresentam eficácia no controle de pragas de solo (SILVA, 2007). Além disso, esses agentes apresentam várias vantagens quando comparados a outros métodos de controle, através da ação sinérgica com outros entomopatógenos e inclusive com produtos químicos, favorecendo seu uso em programas de manejo integrado, frisando que este último método de controle é o mais

eficiente até os tempos atuais (FERRAZ, 1998; GREWAL et al., 2001; KOPPENHÖFER et al., 2002; KOPPENHÖFER et al., 2003; LUNZ et al., 2010).

Muitos são os custos para esta tecnologia, embora alguns deles não possam ser mensurados com cálculos precisos.

Desta forma, os objetivos do presente trabalho foram:

1. Avaliar a persistência destes nematoides entomopatogênicos dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*, visando o controle de ninfas de cigarras-do-cafeeiro em condições de campo.
2. Testar a eficiência de diferentes aplicações de nematoides entomopatogênicos em condições de campo.
3. Verificar se há compatibilidade entre os produtos químicos usados na cultura do cafeeiro e os nematoides entomopatogênicos *Heterorhabditis* e *Steinernema*.

CAPÍTULO 1

Este capítulo permite entender a ideia de como a cultura do cafeeiro se encontra no cenário mundial, bem como a situação de controle da cigarrado-cafeeiro.

1 Referencial Teórico

Este tópico aborda todas as informações obtidas até o presente sobre a cigarra-do-cafeeiro *Quesada gigas*.

1.1 A cultura do cafeeiro: no âmbito nacional e internacional

Atualmente, o Brasil continua sendo o maior produtor e exportador e o terceiro maior consumidor de café do mundo. Esta marca se mantém desde as safras de 2003/2004 até o presente (AGRIANUAL, 2011). A principal espécie, *Coffea arabica*, é conhecida como café arábica e a espécie *C. canephora*, conhecida como café conilon ou robusta (PRADO; NASCIMENTO, 2003).

Com elevados números de produção, consumo e até mesmo de exportação (principalmente para os Estados Unidos), o Brasil tem destaque na cultura, gerando um PIB (produto interno bruto) de aproximadamente 5,2% ao valor real de aproximadamente 900 bilhões de reais (IBGE, 2011).

Há diversas variedades no mercado, inclusive novas espécies geneticamente melhoradas. As novas variedades são resistentes a várias pragas, permitindo um menor custo com insumos para o controle. Dentre as inúmeras variedades podem-se destacar algumas como: mundo novo, catuaí amarelo e vermelho, catuaí amarelo e vermelho, rubi, icatu, topázio, entre outras (EMBRAPA, 2011).

Os cafeicultores gastam com insumos agrícolas para manter suas lavouras em condições adequadas de controle de pragas. Os custos são elevados para salvaguardar uma lavoura de cafeeiro. Considerando valores, pequena parte é destinada ao controle de insetos-praga, entretanto, é de extrema importância reduzir esses valores proporcionando maior renda ao produtor (AGRIANUAL, 2011).

1.2 Principais insetos-praga do cafeeiro

A cultura hospeda vários insetos-praga, dentre os principais podemos citar a broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867)

(Coleoptera: Scolytidae), o bicho-mineiro *Leucoptera coffeella* (Guérin-Ménéville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae), as cochonilhas da parte aérea: *Coccus viridis* (Green, 1889) (Hemiptera: Coccidae), *Saissetia coffeae* (Walker, 1852) (Hemiptera: Coccidae), *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) e da raiz: *Dysmicoccus texensis* (Hempel, 1918) (Hemiptera: Pseudococcidae) (GALLO et al., 2002); e as cigarras *Quesada gigas*, *Fidicina pronoe*, *Carineta* sp. e *Dorisiana* sp. (Hemiptera: Cicadidae) (GALLO et al., 2002; MACCAGNAN; MARTINELLI, 2004).

As cigarras do cafeeiro têm aumentado em importância, por elevar os danos durante a safra do café, sendo consideradas como uma das principais pragas-chave para esta cultura. Ocorrem principalmente nos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná (MACCAGNAN; MARTINELLI, 2004).

1.3 *Quesada gigas*

A espécie *Quesada gigas* (Olivier, 1790) pertence à família Cicadidae (Hemiptera: Auchenorrhyncha), havendo outras três espécies ocorrentes em cafeeiro: *Fidicina pronoe* (Walker, 1850), *Carineta fasciculata* (Germar, 1830) e *Dorisiana drewseni* (Stål, 1854). A cigarra *Q. gigas* destaca-se por ser maior e em consequência mais prejudicial ao cafeeiro (GALLO et al., 2002; REIS; SOUZA; VENZON, 2002). Todas as espécies têm ciclos de vida longos que podem chegar até dezessete anos para espécies ocorrentes na América do Norte, como é o caso do gênero *Magicicada*, sendo que na maior parte do ciclo, elas permanecem na forma jovem (ninfas), abaixo da superfície do solo (COOLEY, 2006). O adulto, por sua vez, dura apenas algumas semanas. Os outros gêneros englobam as cigarras anuais, que apesar de possuírem ciclos de vida longos, não são sincronizados, de maneira que todos os anos, ocorre a emergência de adultos e em todas as épocas é possível encontrar todos os instares das cigarras no solo.

É possível identificar as espécies pelos caracteres como coloração, espinhos nas pernas e, principalmente por meio da genitália masculina. As ninfas de *Quesada gigas* podem ser identificadas por meio da fórmula femural, determinada pela quantidade de dentes nos fêmures (MACCAGNAN; MARTINELLI, 2004).

As principais espécies de cigarras que atacam as raízes do cafeeiro são: *Q. gigas*, *Fidicina pronoe*, *Carineta fasciculata*, *Carineta spoliata* (Walker, 1858), *Carineta matura* (Distant, 1892), *Dorisiana drewseni* e *Dorisiana viridis* (Olivier, 1790). A época de emergência de adultos ocorre entre setembro e novembro para *Q. gigas*, *F. pronoe* e *D. viridis*, dezembro para *D. drewseni* e fevereiro para *C. matura*, *C. spoliata* e *C. fasciculata* (GALLO et al., 2002).

A espécie *Q. gigas* é a mais ocorrente no sul de Minas Gerais com cerca de 90% das amostragens realizadas e considerada uma das principais pragas da cultura do cafeeiro (REIS; SOUZA; VENZON, 2002).

1.4 Aspectos bioecológicos

As cigarras-do-cafeeiro possuem coloração geralmente escura com asas transparentes e com manchas escuras. As fêmeas são atraídas pelos machos através do som emitido de órgãos conhecidos como tímбалos. Esta estrutura é situada no início do abdome, nos primeiros urômeros. Dentre algumas características marcantes das ninfas encontra-se o primeiro par de pernas fossoriais que são modificadas para auxiliar na escavação (GALLO et al., 2002).

O tamanho das ninfas de *Q. gigas* é bastante variado e conforme o ínstar, sendo que em média, ninfas móveis medem em torno de 20 mm a 30 mm de comprimento (REIS; SOUZA; VENZON, 2002). Maccagnan e Martinelli (2004) descrevem detalhadamente os cinco estádios ninfais desta cigarra com os respectivos tamanhos em milímetros para cada ínstar:

1º ínstar (2,2); 2º ínstar (4,2); 3º ínstar (8,2); 4º ínstar (14,6) e 5º ínstar (27,3).

São insetos hemimetabólicos, ou seja, possuem desenvolvimento incompleto passando por ovo – ninfa – adulto, sendo que os adultos são alados. Após a cópula, as fêmeas depositam seus ovos na casca dos galhos e ramos das plantas hospedeiras. Quando as ninfas eclodem, pendem por um filamento que excretam, descendo até o solo, alojam-se junto das raízes da planta primária e depois migram conforme seu tamanho para raízes maiores (SOUZA; REIS; MELLES, 1983).

Ainda há pouca informação sobre a biologia desses insetos devido à enorme dificuldade de criá-los em laboratório, o que ainda não ocorre. Entretanto, Maccagnan¹ (2010) está desenvolvendo técnicas para criação desse inseto em laboratório e já tem alguns resultados sobre postura e eclosão das cigarras.

As ninfas são muito sensíveis e quando retiradas do solo são muito frágeis, havendo alta mortalidade. Os insetos adultos costumam emergir nos meses de setembro a novembro, influenciados pela precipitação pluviométrica embora haja relatos que seja entre os meses de agosto a outubro (GALLO et al., 2002). A duração do ciclo norteia entre quatro anos sendo que em sua maior parte o inseto permanece na forma de ninfa móvel, abaixo da superfície, enquanto o adulto vive cerca de quatro meses.

No último ínstar de vida imatura, com as tecas alares já presentes, as ninfas escavam até a superfície, formando uma galeria cilíndrica e individual. Uma vez fora do solo, sobem no tronco ou galhos do cafeeiro, onde se fixam (ninfa imóvel). Após um período de aproximadamente duas horas, ocorre o rompimento do tegumento ao longo da linha da ecdise, por onde emerge o inseto adulto.¹

¹MACCAGNAN, D. H. B., **Comunicação pessoal**, Jaboticabal (SP), em 21 de janeiro de 2010.

1.5 Danos

As ninfas móveis iniciam a sucção da seiva com o aparelho bucal picador sugador tetraqueta. O excesso de líquido sugado pelos insetos é eliminado através da câmara-filtro (estrutura exclusiva de hemípteros), resultando em uma substância açucarada denominada “honeydew”, que serve para umedecer a terra, e assim, facilitar a formação de uma cavidade onde o inseto se abriga. Como não podem eliminar a terra da cavidade onde se encontram, elas vão umedecendo-a abundantemente e comprimindo-a, formando assim uma cavidade cujo tamanho vai sendo aumentado para acomodar seu corpo à medida que vão crescendo (SOUZA; REIS; MELLES, 1983).

Comumente, as ninfas alojam-se junto à raiz principal, entretanto são encontradas também sugando as raízes secundárias, isso é bastante variável conforme o seu tamanho. Concentram-se principalmente até trinta e cinco centímetros abaixo da superfície, mas há relatos de ninfas encontradas a um metro de profundidade (SOUZA; REIS; MELLES, 1983). Quando é feita amostragem em cafeeiros infestados, há maior população logo nos primeiros quinze centímetros de profundidade.

1.6 Controle da cigarra-do-cafeeiro

O controle cultural das cigarras-do-cafeeiro consiste na eliminação de cafezais infestados e realização de rotação de culturas, de maneira que novos cafezais só voltem a ser plantados na área após um período de dois a três anos, e quando implantados quebra-ventos deve-se tomar cuidado com espécies que sejam hospedeiras como a grevilea (REIS; SOUZA; VENZON, 2002).

O controle mecânico consiste na catação manual das ninfas imóveis e insetos adultos das cigarras. Entretanto, esse método é inviável devido a curta duração da fase de ninfa imóvel, dificuldade de captura de adultos, extensão das lavouras atacadas e mão-de-obra dispendiosa (REIS; SOUZA; VENZON, 2002).

O controle químico é o mais utilizado até o momento porque tem apresentado melhores resultados e é feito com o intuito de controlar as ninfas móveis no solo. Os inseticidas mais eficazes têm sido os sistêmicos granulados, que devem ser aplicados durante o período chuvoso do ano, através da incorporação do produto em sulcos no solo, próximos ao caule, para maior eficácia (REIS; SOUZA, 1998). Segundo estudos realizados por esses autores, a aplicação de inseticidas por dois anos seguidos pode reduzir o número de ninfas abaixo do nível de controle (35 ninfas de *Q. gigas*/cova).

Souza, Reis e Melles (1983) citam que para maior eficácia do controle químico, deve-se realizar a aplicação no solo entre 25 de outubro e 15 de dezembro em área total. Martinelli et al. (1998) avaliaram modos de aplicação de inseticidas granulados sistêmicos e sua eficiência para o controle de *Q. gigas* e *D. drewseni*. Conforme os autores, a forma de aplicação que obteve melhor desempenho na redução do número de ninfas foi aplicação costal manual. Entre os produtos avaliados, terbufós foi o que apresentou melhor resultado.

Segundo Martinelli et al. (2000), o método de aplicação pode influenciar na eficácia do produto. Quando aplicados de maneira adequada, dosagens menores que a recomendada pelo fabricante também foram eficientes no controle das cigarras do cafeeiro. Os autores avaliaram doses até 30% abaixo da recomendada, alcançando os mesmos índices de controle da dose total.

O controle biológico apresenta diversas alternativas de controle para as cigarras. Os fungos entomopatogênicos são eficazes contra adultos da cigarra conforme Soper, Delyzer e Smith (1976) quando referem-se ao fungo entomopatogênico *Massospora cicadina* como um dos mais importantes agentes de controle biológico de cigarras do cafeeiro.

Os autores verificaram que o ciclo desse fungo em cigarras desenvolve-se da seguinte forma: ninfas maduras se tornam infectadas por esporos de repouso encontrados no solo, emergem e transformam-se em adultos e os insetos desenvolvem uma massa conidial em poucos dias e

contaminam outros adultos. As cigarras infestadas acima do solo por conídios desenvolvem esporos de repouso, que são levados para o solo quando o inseto morre. O tempo necessário para o desenvolvimento do fungo é de seis a quinze dias.

Segundo White e Lloyd (1983), o fungo *M. cicadina* não invade o tórax ou a cabeça, mas somente o abdome, nos escleritos terminais que caem e expõem uma massa de conídios infectivos. O inseto, porém, continua vivo e ao voar entre outros indivíduos, durante o voo nupcial transmite a doença. De acordo com White et al. (1983), uma cigarra contaminada por *Massospora* spp. tem a mesma capacidade de voo de uma cigarra sadia.

De acordo com Alves (1998) o fungo *Massospora* spp. é um dos principais agentes de controle microbiano de cigarras, possui conídios alongados e multinucleados (um a seis núcleos) e esporos de resistência característicos (zigósporos), com superfície reticulada, formados a partir de corpos hifais no abdome do hospedeiro. Nas cigarras, causa a chamada gangrena seca.

Os clamidósporos podem sobreviver por até dezessete anos. No Brasil, as principais espécies já relatadas são: *Massospora spinosa* atacando *Q. gigas*, *Massospora dorisiana* sobre *Dorisiana semilata*, *Massospora carineta* em *Carineta* sp. e *Massospora diminuta* em *Cicada* sp.

Souza, Reis e Melles (1983) verificaram a patogenicidade do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre ninfas grandes de *Q. gigas*, criadas em mudas de cafeeiros. Após trinta dias, as ninfas estavam mortas e cobertas pelo micélio do fungo.

O controle microbiano vem alcançando espaço no controle de insetos-praga através dos vários trabalhos publicados com fungos, bactérias, vírus e nematoides. Uma das razões dessa procura são as vantagens destes agentes biológicos, pois são específicos e seletivos; possuem fácil multiplicação e produção; podem ser utilizados com outros controles associados; as aplicações podem ser realizadas com máquinas convencionais utilizadas para produtos fitossanitários; não poluem e nem causam

toxicidade no ambiente e em animais superiores; enfim, uma série de vantagens que os tornam mais evidentes para implantação em programas de manejo integrado de pragas (ALVES, 1998).

Atualmente, trabalhos com nematoides entomopatogênicos estão sendo alvo de muitos pesquisadores por possuírem vantagens ainda mais eficientes do que outros entomopatógenos.

1.7 Nematoides entomopatogênicos

Há vários motivos para estes entomopatógenos terem futuro promissor no controle biológico com as seguintes vantagens (FERRAZ, 1998; KOPPENHOFER et al., 2000; KOPPENHOFER et al., 2002):

- (1) resistem a vários defensivos agrícolas;
- (2) possuem ação sinérgica perante alguns produtos fitossanitários;
- (3) não causam danos às plantas cultivadas;
- (4) podem ser aplicados em pastagens, pois não são nocivos a animais superiores.

Poucos são os trabalhos com nematoides entomopatogênicos no Brasil, mas o interesse por essa linha de pesquisa tem crescido nos últimos anos, principalmente devido a algumas iniciativas de grupos de pesquisadores na promoção de *workshops*, encontros e cursos e ao potencial de utilização de espécies e/ou populações autóctones ainda desconhecidas no Brasil (GREWAL; NARDO; AGUILERA, 2001).

Apesar da evidência da eficácia dos nematoides entomopatogênicos no controle de insetos-praga de solo, alguns outros fatores devem ser levados em consideração como a formulação, o armazenamento e o comportamento de busca destes entomopatógenos.

1.8 Aspectos biológicos

Os nematoides entomopatogênicos foram encontrados, identificados e distribuídos em vinte e sete famílias compreendidas em oito ordens

(NGUYEN, 2002). Uma das ordens que mais ocorre no Brasil é Rhabditida, ocorrendo as famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae e os principais gêneros compreendem *Heterorhabditis* e *Steinernema*, respectivamente.

Os nematoides podem ser de vida livre, predadores ou parasitas (GAUGLER et al., 1992). Nematoides de boa qualidade tendem a ter uma alta taxa de lipídeos, possuindo densa aparência, considerando que nematoides transparentes apresentam atividade, porém com um nível baixo de infectividade (GAUGLER, 1992).

1.9 Ciclo de vida e associação com bactérias

Os nematoides entomopatogênicos possuem simbiose com bactérias, sendo que os gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* vivem associados com bactérias do gênero *Photorhabdus* e *Xenorhabdus*, respectivamente. Estas bactérias não formam esporos e, portanto, não apresentam estágios resistentes em condições ambientais, sendo encontradas somente em juvenis infectantes ou em insetos parasitados pelos mesmos (FERRAZ, 1998).

Nessa simbiose, os nematoides fornecem proteção à bactéria enquanto ainda não introduzidas no corpo do inseto e atuam como transportadores ou vetores da bactéria de um cadáver para a hemocele de um inseto vivo.

Os nematoides penetram em seus hospedeiros através de aberturas naturais como espiráculos, boca e ânus. Dessa forma, passam para a hemocele do inseto, liberando as bactérias pelo ânus para ele, onde se multiplicam rapidamente causando septicemia e posterior morte do inseto (FERRAZ, 1998).

O ciclo para as espécies de *Steinernema* ocorre da seguinte forma: juvenis infectantes (juvenis de terceiro ínstar – J₃) penetram no inseto através de aberturas naturais e passam rapidamente para a hemocele, onde liberam a bactéria pelo ânus. Após um período muito curto, as bactérias causam septicemia no hospedeiro, levando-o à morte. O cadáver fica totalmente banhado de nematoides e origina-se um local rico em nutrientes constituído

de tecidos do inseto. Assim, os nematoides se alimentam e originam a primeira geração dentro no cadáver passando para juvenis de último ínstar (J_4), formando os adultos da primeira geração. Os descendentes destes ainda usufruem do rico alimento e são capazes de originar outras gerações.

Depois da segunda geração começa o surgimento de juvenis (J_1), que se alimentam dos resíduos do cadáver, praticamente decomposto. Ao cessar a alimentação migram para o ambiente externo (provavelmente solo), passando para juvenis (J_2) contendo a bactéria em sua forma primária e acumulada no intestino. Nesta fase, a cavidade da boca e ânus fecha-se e o nematoide para de se alimentar, passando para juvenis de terceiro ínstar (J_3), onde procuram um novo hospedeiro para recomeçar o ciclo (FERRAZ, 1998; BOEMARE, 2002).

Para espécies de *Heterorhabditis*, o ciclo é bastante semelhante, porém a diferença está na primeira geração, em que as fêmeas são hermafroditas, surgindo machos e fêmeas anfimíticas na segunda geração, podendo também ocorrer nas próximas gerações do nematoide (FERRAZ, 1998; BOEMARE, 2002).

1.10 Importância e casos de sucesso com nematoides entomopatogênicos

Na literatura, não existem relatos da ocorrência de nematoides entomopatogênicos em cigarras, entretanto, a eficiência destes agentes no controle de outras pragas de solo é bastante evidente (SILVA, 2007).

Cappaert e Koppenhöfer (2003) avaliaram uma nova espécie de nematoide (*Steinernema scarabaei*) sobre o besouro *Rhizotrogus majalis* e o besouro oriental *Popillia japonica*, em bioensaios e ensaios em casa de vegetação e campo. *Steinernema scarabaei* causou grande mortalidade e virulência aos besouros superando a mortalidade de *H. bacteriophora* (também testado). Mortalidades mais altas do que *H. bacteriophora* e *S. glaseri* também foram observadas em casa de vegetação.

Campbell et al. (1996) realizaram um estudo sobre dinâmica populacional de dois nematoides (*S. carpocapsae* e *H. bacteriophora*) em

gramado e o efeito sobre populações do besouro oriental (*Popillia japonica*), larvas e outros artrópodes associados com a superfície do solo. Ambos os nematoides foram recapturados, porém *S. carpocapsae* tendeu ser mais prevalente do que *H. bacteriophora*.

Stuart et al. (1997) avaliaram a suscetibilidade de *Dysmicoccus vacinii* (Hemiptera: Pseudococcidae) a diferentes isolados de nematoides entomopatogênicos. Segundo eles, os isolados do gênero *Heterorhabditis* foram mais eficientes do que os do gênero *Steinernema* no controle da cochonilha.

Fêmeas adultas da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro (*Dysmicoccus texensis*) também são suscetíveis a nematoides entomopatogênicos. Testes de seleção de isolados indicaram que *S. carpocapsae* causou mortalidade em concentrações baixas (25 JI's/ inseto) (ANDALÓ et al., 2004).

De acordo com os mesmos autores, nematoides entomopatogênicos foram mais virulentos à cochonilha do que fungos entomopatogênicos. Tal fato pode ser explicado pelo comportamento destes dois entomopatógenos, pois enquanto os esporos do fungo são imóveis, os nematoides possuem a capacidade de se deslocar em busca do hospedeiro. Além disso, os nematoides possuem ação simbiote com bactérias, que causam a morte rápida do hospedeiro, ao contrário dos fungos.

Larvas de Lepidoptera também são suscetíveis a nematoides entomopatogênicos. As larvas de *Amyyelois transitella* (Lepidoptera: Pyralidae) atacam as folhas e frutos de pistacheiras. Os frutos atacados acabam caindo, levando a sérias perdas na produção. Entretanto, é nesta fase que é possível o controle do inseto, pois as larvas abrigam-se no interior dos frutos caídos no final do seu desenvolvimento, favorecendo a ação dos nematoides. Os autores realizaram testes em laboratório, com frutos infestados, obtendo mortalidade do inseto, com concentração de 100.000 JI's/m² (*S. carpocapsae*) (SIEGEL et al., 2004).

Jagdale et al. (2004) avaliaram o efeito da aplicação de *S. feltiae* sobre larvas do díptero *Bradisia coprophila* (Sciaridae), conhecido

popularmente como “fungus gnat”, em condições de casa de vegetação. Segundo os autores, a população do inseto foi reduzida significativamente quando *S. feltiae* foi aplicado na concentração de $2,5 \times 10^5$ JI's/ha.

A fase jovem de *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) permanece no solo durante a fase de pré-pupa e pupa. Ebssa, Borgemeister e Poehling (2004) avaliaram a suscetibilidade deste inseto nestas fases a diversos isolados de nematoides entomopatogênicos. De maneira geral, os heterorhabditídeos foram mais virulentos que os esteinernematídeos, onde *H. indica* causou mortalidade significativa quando aplicado na concentração de 100 JI's/cm².

Trabalhos mencionam aplicações via foliar para nematoides, como realizado por Williams e Walters (2000), onde utilizaram esta metodologia para controle de insetos sobre as folhas de vegetais com o nematoide *S. feltiae*. Assim, Schroer e Ehlers (2005) também utilizaram da técnica de aplicação foliar para a traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*.

O nematoide entomopatogênico *Neosteinerinema longicurvicauda* foi isolado do cupim *Reticulitermes flavipes*, sendo aquele nematoide isolado deste termitídio e somente encontrado no mesmo (NGUYEN, 2002).

1.11 Compatibilidade de produtos químicos com nematoides entomopatogênicos

Estudos recentes sobre compatibilidade de produtos químicos e nematoides entomopatogênicos são realizados com alguns biocidas, principalmente com inseticidas, porém há trabalhos com acaricidas, fungicidas e herbicidas também. Os produtos fitossanitários são aplicados de forma que entram em contato direto ou indireto com o solo, ocasionando respostas positivas e/ou negativas aos nematoides.

Hara e Kaya (1983) avaliaram o efeito de inseticidas organofosforados sobre o comportamento e infectividade do nematoide entomopatogênico *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) às larvas de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). A movimentação

dos nematoides foi prejudicada quando utilizaram os produtos mevinfós, fenamifós e triclofon. A infectividade dos juvenis infectantes às larvas diminuiu nos tratamentos em que foram utilizados estes produtos.

Em estudos realizados por Nishimatsu e Jackson (1998), testando o uso combinado de inseticidas (terbufós e fonofós) e nematoides entomopatogênicos (*S. carpocapsae* e *Heterorhabditis bacteriophora*) para controle da *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae), observaram que terbufós associado a *S. carpocapsae*, em quatorze das vinte concentrações testadas, causaram efeitos aditivos na mortalidade larval. Entretanto, das quinze concentrações de fonofós utilizadas em mistura com o nematoide, em dez concentrações foram observados efeitos sinérgicos aumentando a mortalidade de larvas do inseto.

Inseticidas carbamatos afetam o comportamento e infectividade do nematoide entomopatogênico *S. carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) às larvas de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) (HARA; KAYA, 1983). Além disso, observaram que a movimentação dos nematoides foi prejudicada, quando utilizaram os produtos oxamil e metomil. A patogenicidade dos juvenis infectantes às larvas diminuiu nos tratamentos em que foram utilizados estes produtos. Em um estudo realizado por Rovesti e Deseo (1990), observaram que o produto aldicarbe foi o mais tóxico para os nematoides *S. carpocapsae* e *S. feltiae*.

Nishimatsu e Jackson (1998), testando o uso combinado do inseticida teflutrina e nematoides entomopatogênicos (*S. carpocapsae* e *H. bacteriophora*) para controle da *D. virgifera virgifera*, estes autores observaram que uma combinação de teflutrina e *S. carpocapsae* indicou uma interação antagonista, ocasionando um efeito prejudicial do inseticida sobre o nematoide.

Head, Walters e Langton (2000), observaram a patogenicidade do nematoide entomopatogênico *S. feltiae* sobre *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae) em condições de campo e *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) em condições de laboratório. A

mortalidade das larvas do piralídeo pelos nematoides quando expostos a deltametrina foi de 0,56%. No campo, o produto também afetou a patogenicidade do nematoide, porém ocorreu alta taxa de sobrevivência das larvas.

Estudos realizados com inseticidas neonicotinóides por Koppenhöfer et al. (2000) em casa-de-vegetação com o ingrediente ativo imidaclopride e o nematoide *H. bacteriophora* para controle de dois escarabeídeos causaram uma reação sinérgica entre os controles utilizados.

Koppenhöfer et al. (2002) realizaram trabalhos comparando inseticidas do grupo dos neonicotinóides, usaram o ingrediente ativo imidaclopride e verificaram que ele possui efeito sinérgico contra larvas de terceiro ínstar do besouro oriental, *P. japonica* e três espécies de outros besouros do gênero *Cyclocephala* (*C. hirta*, *C. pasadenae* e *C. borealis*). Além disso, foi verificado que o efeito deste ingrediente é mais sinérgico do que o de outro neonicotinóide, o tiametoxam.

Cappaert e Koppenhöfer (2003) observaram que a combinação imidaclopride com *S. scarabaei* causou uma interação antagônica, sendo necessários mais estudos sobre esta associação. Koppenhofer e Kaya (1998) observaram efeitos sinérgicos quando em aplicações combinadas de imidaclopride e nematoides entomopatogênicos sobre larvas de terceiro ínstar de *C. hirta* e *C. pasadanae* Casey (Coleoptera: Scarabaeidae). Em todas as combinações com nematoide-imidaclopride, a mortalidade larval foi significativamente elevada, sendo superior à mortalidade encontrada no tratamento testemunha, resultando num efeito sinérgico.

Polavarapu et al. (2007) realizaram dois estudos de campo e dois em casa-de-vegetação, sendo testados dois nematoides entomopatogênicos (*S. scarabaei* e *H. bacteriophora*) e dois inseticidas neonicotinóides (tiametoxam e imidaclopride) para controle do besouro oriental, *Anomala orientalis* (Coleoptera: Scarabaeidae). Em casa-de-vegetação e campo, *S. scarabaei* obteve sucesso no controle de 50-95%. Porém, entre as

combinações de inseticida mais nematoide não houve melhor eficácia do controle, quando aplicados em separado imidaclopride e *S. scarabaei*.

Yildirim e Hoy (2003), realizando estudos com reguladores de crescimento, observaram que a ciromazina, um inseticida regulador de crescimento que afeta o metabolismo da epiderme e interfere no processo de esclerotização da cutícula, foi aplicado em conjunto com *H. bacteriophora*, para controle da mosca do alho *Delia antiqua* (Diptera: Anthomyiidae) e em estudos preliminares não houve interação sinérgica e nem antagônica entre os métodos de controle, podendo ser utilizados sem risco de afetar a eficácia de cada um.

O comportamento dos juvenis infectantes dos nematoides, *S. carpocapsae* e *S. feltiae* foram prejudicados quando expostos aos herbicidas alachlor e paraquate (ROVESTI; DESEO, 1990). Forschler, All e Gardner (1990) realizaram bioensaios sobre atividade e infectividade de *S. feltiae* com os herbicidas Alachlor, sethoxydim, 2,4 D e glifosato em três concentrações, dispostos em placas de Petri. Os autores concluíram que a infectividade do nematoide no solo foi reduzida quando exposto ao 2,4 D e Alachlor, sendo verificado que a DL_{50} foi de 8,8 e 26,7 JI/larva, respectivamente.

Ao estudarem fungicidas, Rovesti e Deseo (1990), observaram a compatibilidade de setenta e cinco produtos fitossanitários com os nematoides *S. carpocapsae* e *S. feltiae*. Os juvenis infectantes de ambas as espécies toleraram a maioria dos produtos, somente dodine prejudicou os nematoides.

Zimmerman e Cranshaw (1990) avaliaram a compatibilidade dos fungicidas benomil, clorotalonil e pentacloronitrobenzeno, e observaram que foram compatíveis com os isolados *S. carpocapsae* e *S. bibionis*. Porém, observaram que o cloreto de mercúrio foi mais tóxico, causando 100% de mortalidade às espécies de nematoides.

2 Referências

AGRIANUAL: Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP consultoria e comércio. Anual. 2011.

ALVES, S. B. (ed.). **Controle microbiano de insetos.** Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.

ANDALÓ, V.; MOINO JR., A.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; SOUZA, G. C. Seleção de isolados de fungos e nematoides entomopatogênicos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). **Arquivos do Instituto Biológico.** São Paulo, v. 71, n. 2, p. 181-7, abr./jun. 2004.

BOEMARE, N. Biology, taxonomy and systematic of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic nematology.** Wallingford (UK): CABI Publishing, 2002. p. 35-56.

CAMPBELL, J. F.; LEWIS, E.; YODER, F.; GAUGLER, R. Entomopathogenic nematode (Heterorhabditidae e Steinernematidae) seasonal population dynamics and impact on insect populations in turfgrass. **Biological Control.** v.113, n.5. p. 598-606. 1995.

CAPPAERT, D. L.; KOPPENHÖFER, A. M. *Steinernema scarabaei*, an entomopathogenic nematode for control of the European chafer. **Biological Control.** v. 28, n. 3, p. 379-86, nov. 2003.

EBSSA, L.; BORGEMEISTER, C.; POEHLING, H.-M. Effectiveness of different species/strains of entomopathogenic nematodes for control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) at various concentrations, host densities, and temperatures. **Biological Control.** v. 29, n. 1, p. 145-54, jan. 2004.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária. **Embrapa Café.** Disponível em: <<http://www22.sede.embrapa.br/cafe/>>. Acesso em: 18 jan. 2011.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos.** 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. Cap. 11. p. 541-67.

FORSCLER, B. T.; ALL, J. N.; GARDNER, W. A. *Steinernema feltiae* activity and infectivity in response to herbicide exposure in aqueous and soil environments. **Journal of Invertebrate Pathology.** v. 55, n. 3, p. 375-9, may. 1990.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GAUGLER, R.; CAMPBELL, J.; SELVAN, M.; LEWIS, E. Large-scale inoculative releases of the entomopathogen *Steinernema glaseri*: assessment 50 years later. **Biological Control**. v. 2, n. 3, p. 181-7, aug. 1992.

GREWAL, P. S.; NARDO, E. A. B.; AGUILLERA, M. Entomopathogenic nematodes: potencial for exploration and use in South América. **Neotropical Entomology**. Londrina, v. 30, n. 2, p. 191-205, apr./june 2001.

HARA, A. H.; KAYA, H. K. Toxicity of selected organophosphate and carbamate pesticides to infective juveniles of the entomogenous nematode *Neoaplectana carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). **Environmental Entomology**. v. 12, n. 2, p. 496-501, apr. 1983.

HEAD, J.; WALTERS, K. F. A.; LANGTON, S. The Compatibility of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* and chemical insecticides for the control of the South American Leafminer, *Liriomyza huidobrensis*. **Biocontrol. (Dordrecht)**, v. 45, n. 3, p. 345-53, sep. 2000.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://WWW.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/>>. Acesso em: 20 jan. 2011.

JAGDALE, G.B.; CASEY, M. L.; GREWAL, P.S.; LINDQUIST, R.K. Application rate and timing, potting medium, and host plant effects on the efficacy of *Steinernema feltiae* against the fungus gnat, *Bradysia coprophila*, in floriculture. **Biological Control**. v. 29, n. 2, p. 296-305, feb. 2004.

KOPPENHÖFER, A. M.; BROWN, I. M.; GAUGLER, R.; GREWAL, P. S.; KAYA, H. K.; KLEIN, M. G. Synergism of Entomopathogenic Nematodes and Imidacloprid against White Grubs: greenhouse and field evaluation. **Biological Control**. v. 19, n. 3, p. 245-51, nov. 2000.

KOPPENHÖFER, A. M.; COWLES, R. S.; COWLES, E. A.; FUZY, E. M.; BAUMGARTNER, L. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes. **Biological Control**. 24. 90-97. 2002.

KOPPENHÖFER, A. M.; COWLES, R. S.; COWLES, E. A.; FUZY, E. M.; KAYA, H. K. Effect of neonicotinoid synergists on entomopathogenic nematodes fitness. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 106, n. 1, p. 7-18, jan. 2003.

KOPPENHÖFER, A. M.; KAYA, H. K. Synergism of imidacloprid and an entomopathogenic nematode: a novel approach to White Grub (Coleoptera: Scarabaeidae) control in turfgrass. **Journal of Economic Entomology**. v. 91, n. 3, p.618-23, 1998.

LUNZ, A.M.; AZEVEDO, R. de; MOURÃO JÚNIOR, M., MONTEIRO, O.M. LECHINOSKI, A. ZANETI, L.Z. Método para monitoramento de ninfas de cigarras e controle com inseticidas em reflorestamentos com paricá. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 45, n. 7, p. 631-7, jul. 2010.

MACCAGNAN, D. H. B.; MARTINELLI, N. M. Descrição das ninfas de *Quesada gigas* (Olivier) (Hemiptera: Cicadidae) associadas ao cafeeiro. **Neotropical Entomology**. v. 33, n. 4, p. 439-46, jul./ago. 2004.

MARTINELLI, N. M.; MATUO, T.; YANADA, M. R.; MALHEIROS, E.B. Modo de aplicação e eficiência de inseticidas granulados sistêmicos para o controle de cigarras (Hemiptera: Cicadidae) do cafeeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. v. 27, n. 1, p. 133-40, mar. 1998.

MARTINELLI, N. M.; MATUO, T.; MARTINS, D.R.; MALHEIROS, E.B. Efeito de dosagens de inseticidas granulados aplicados com diferentes métodos para o controle das cigarras do cafeeiro. **Ecossistema**. v. 25, n. 2, p. 209-11, ago./dez. 2000.

NGUYEN, K. B. **History of insect parasitic nematodes**. Florida (USA): University of Florida, Jan. 2010. Disponível em: <http://entnemdept.ufl.edu/nguyen/FLNEM/HISTORY/entomophilic_history.htm>. Acesso em: 10 out. 2010.

NISHIMATSU, T.; JACKSON, J. J. Interaction of insecticides, entomopathogenic nematodes and larvae of the western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**. v. 91, n. 2, p. 410-8, Apr. 1998.

POLAVARAPU, S.; KOPPENHÖFER, A. M.; BARRY, J. D.; HOLDCRAFT, R. J. & FUZY, E. M. Entomopathogenic nematodes and neonicotinoids for remedial control of oriental beetle, *Anomala orientalis* (Coleoptera: Scarabaeidae), in highbush blueberry. **Crop Protection**. v. 26, n. 8, p. 1266-71, Aug. 2007.

PRADO, R. M.; NASCIMENTO, V. M. **Manejo da adubação do cafeeiro no Brasil**. Ilha Solteira: UNESP/FEIS, 2003. 273p.

REIS, P. R.; SOUZA, J. C. **Cigarras do cafeeiro, dano e controle**. Belo Horizonte: EPAMIG/CRSM, 1991. 5 p. (Circular Técnica).

- REIS, P. R. & SOUZA, J.C. Manejo integrado das pragas do cafeeiro em Minas Gerais. **Informe Agropecuário**. v. 19, n. 193, p. 17-25, 1998.
- REIS, P. R.; SOUZA, J. C.; VENZON, M. Manejo ecológico das principais pragas do cafeeiro, **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v. 23, n. 214, p. 83-99, 2002.
- ROVESTI, L.; DESEO, K. V. Compatibility of chemical pesticides with the entomopathogenic nematodes: *Steinernema carpocapsae* Weiser and *Steinernema feltiae* Filipjev (Nematoda: Steinernematidae). **Nematology**. v. 36, n. 2, p. 237-45, 1990.
- SCHROER, S.; EHLERS, R.-U. Foliar application of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* for biological control of diamondback moth larvae (*Plutella xylostella*). **Biological Control**. v. 33, n. 1, p. 81-6, apr. 2005.
- SIEGEL, J.; LAWRENCE, A.L.; FRITTS Jr.,R.; HIGBEE, B.S.; NOBLE, P. Use of steinernematid nematodes for post harvest control of navel orangeworm (Lepidoptera: Pyralidae, *Amyelois transitella*) in fallen pistachios. **Biological Control**. v. 30, n. 2, p. 410-7, 2004.
- SILVA, M. A. T. **Avaliação de nematoides entomopatogênicos visando o controle da cigarra-do-cafeeiro**. 2007. 49f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- SOPER, R. S.; DELYZER, A. J.; SMITH, L. F. R. The genus *Massospora* entomopathogenic for cicadas. Part II. Biology of *Massospora levispora* and its host *Okanagana rimosa*, with notes on *Massospora cicadina* on the periodical cicada. **Annals of the Entomological Society of America**. v. 69, n. 1, p. 89-95(7), jan. 1976.
- SOUZA, J. C.; REIS, P. R.; MELLES, C. C. A. **Cigarras-do-cafeeiro: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos e controle**. Belo Horizonte: EPAMIG, 1983. 27 p. (EPAMIG. Boletim Técnico, 5).
- STUART, R.J.; POLAVARAPU, S.; EDWIN, E.L.; GAUGLER, R. Differential susceptibility of *Dysmicoccus vaccinii* (Homoptera: Pseudococcidae) to Entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae). **Journal of Economic Entomology**. v. 90, n. 4, p. 925-32, Aug. 1997.
- WHITE, J.; GANTER, P.; McFARLAND, R.; STANTON, N.; LLOYD, M. Spontaneous, field-tested and tethered flight in healthy and infected *Magicada septendecium* L. **Oecologia**. v. 57, n. 3, p. 281-6, 1983.

WHITE, J.; LLOYD, M. A pathogenic fungus, *Massospora cicadina* Peck (Entomophthorales), in emerging nymphs of periodical cicadas (Homoptera: Cicadidae). **Environmental Entomology**. v. 12, n. 4, p. 1245-52, aug. 1983.

WILLIAMS, E. C.; WALTERS, K. F. A. Foliar application of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* against leafminer on vegetables. **Biocontrol Scienci Technology**. v. 10, n. 1, p. 61-70, 2000.

YILDRIM, E.; HOY, C. W. Interaction between cyromazine and the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar "GPS11" for control of onion maggot, *Delia antiqua* (Meigen). **Crop Protection**. v. 22, n. 7, p. 923-7, aug. 2003.

ZIMMERMAN, R. J.; CRANSHAW, W. S. Compatibility of three entomogenous nematodes (Rhabditida) in aqueous solutions of pesticides used in turfgrass maintenance. **Journal of Economic Entomology**. v. 83, n. 1, p.97-100, Feb. 1990.

CAPÍTULO 2

Eficiência de nematoides entomopatogênicos para controle da cigarrado-cafeeiro *Quesada gigas* com diferentes métodos de aplicação

RESUMO

As cigarras-do-cafeeiro são insetos-praga de solo com hábitos crípticos e de difícil controle. Atualmente, o controle químico é o mais usado, porém não pode ser utilizado em cultivos orgânicos e sob a regência de determinadas certificações, sendo necessária a pesquisa de outros métodos de controle sustentáveis, como o uso do controle microbiano com nematoides entomopatogênicos e suas formas de aplicação, visto que ainda não se tem um produto à base destes agentes biológicos no Brasil. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as diferentes formas de aplicação utilizando NEP como controle da cigarrado-cafeeiro *Quesada gigas* em cultivo de cafeeiro convencional. Foi conduzido um experimento em cafezal no município de Lavras/MG, com a cultivar Catucaí, em plantas adultas de seis anos de idade. O delineamento foi em blocos casualizados, constando de quatro blocos com seis tratamentos, sendo seis plantas em cada parcela. Os tratamentos foram: (1) suspensão aquosa de *Heterorhabditis* sp. JPM4; (2) enterrio de lagarta de *Galleria mellonella* infectada com *Steinernema riobrave* (cinco lagartas/planta); (3) enterrio de lagarta de *Galleria mellonella* infectada com *Heterorhabditis* sp. JPM4 (cinco lagartas/planta); (4) imidaclopride (5000g/ha); (5) tiametoxan (1000g/ha); (6) Testemunha, com aplicação de água. Foram utilizados cem juvenis infectantes/cm² em suspensão aquosa e a avaliação foi realizada aos trinta e sessenta dias após aplicação, contando-se o número de insetos vivos. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). A eficiência de controle foi determinada pela fórmula de Abbott (1925). Os resultados demonstraram que os nematoides entomopatogênicos são persistentes no ambiente, sendo recuperados em trinta e sessenta dias após aplicação, sendo que *Heterorhabditis* sp. JPM4 foi o mais persistente em campo, sob condições adversas.

Palavras-chave: Controle biológico; Praga do cafeeiro; Técnicas de aplicação.

ABSTRACT

Cicadas are subterranean insect pests with cryptic habits and difficult to control and chemical control is currently the most widely used, but cannot be used in organic farming and under the regency of certain certifications, requiring research in other sustainable methods of control such as the use of microbial control with entomopathogenic nematodes, and their forms of application, since it still does not have a product based on these biological agents in Brazil. The objective of this study was to evaluate the different forms of application using NEP as control of *Quesada gigas* in conventional coffee plantation. An experiment was conducted on coffee trees in the city of Lavras/MG, with the cultivar Catucaí in adult plants of six years old. The design was a randomized block consisting of four blocks with six treatments, six plants in each plot. The treatments were: (1) aqueous suspension of *Heterorhabditis* sp. JPM4, (2) buried *Galleria mellonella* larvae infected with *Steinernema riobrave* (five larvae/plant), (3) buried *Galleria mellonella* larvae infected with *Heterorhabditis* sp. JPM4 (five larvae/plant), (4) imidacloprid (5000g/ha), (5) Tiametoxan (1000g/ha), (6) Control, with water application. A total of 100 infective juveniles/cm² in aqueous suspension were used, and the evaluation was performed at 30 and 60 days after application by counting the number of live insects. The data were subjected to analysis of variance and averages compared by Tukey test ($P \leq 0.05$). The control efficiency was determined by the formula of Abbott (1925). The results demonstrated that entomopathogenic nematodes are persistent in the environment, being recovered in 30 and 60 days after application, and *Heterorhabditis* sp. JPM4 was the more persistent in the field under adverse conditions.

Keywords: Biological control; Pest of coffee; Application techniques.

1 Introdução

Nematoides entomopatogênicos (NEP) são importantes agentes de controle biológico, com vários casos de sucesso para controle de insetos-praga, citados em publicações no mundo inteiro (GREWAL; NARDO; AGUILLERA, 2001; GREWAL; EHLERS; SHAPIRO-ILAN, 2005). São promissores, pois não afetam as plantas e animais superiores, sendo específicos para insetos (FERRAZ, 1998; GAUGLER et al., 2002). Assim, tornam-se alvo de estudos com intuito de minimizar impactos ambientais desnecessários e oriundos de excessivas aplicações com produtos químicos.

O sucesso desse controle é atribuído às características de controladores biológicos e a principal vantagem perante produtos fitossanitários é não causar impacto ambiental (KOPPENHÖFER et al., 2000; 2002; 2003).

Cigarras-do-cafeeiro são insetos-praga de solo com hábitos crípticos e de difícil controle, pois escavam profundidades o que impede a locomoção de predadores para controle desta praga (REIS; SOUZA; VENZON, 2002). O controle químico ainda é o mais usado, porém há condições adequadas de uso de produtos fitossanitários, uma vez que não podem ser utilizados em cultivos orgânicos, fazendo com que o produtor busque outras formas de controle (SILVA, 2007).

Atualmente, busca-se estudar formas de aplicação dos NEP, de forma eficaz e menos onerosa.

Dessa forma, vale ressaltar a importância de estudos com esse foco, para que possa ser melhorada a forma de aplicação deste agente, bem como aprimorar as técnicas de aplicação em campo.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar as diferentes formas de aplicação e a persistência de NEP como agente de controle da cigarra-do-cafeeiro *Quesada gigas* em cultivo de cafeeiro convencional.

2 Material e métodos

Os isolados utilizados foram obtidos do Banco de Entomopatógenos do laboratório de Patologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Após a multiplicação, os isolados foram mantidos em frascos Erlenmeyer, em câmara climatizada sob temperatura de 16°C, em suspensão aquosa.

Para a instalação dos experimentos, a multiplicação foi feita pelo método *in vivo* em larvas do último ínstar de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), provenientes do laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da UFLA.

2.1 Manutenção de *Galleria mellonella*

Para o preparo da dieta artificial para *G. mellonella*, misturam-se todos os ingredientes (Tabela 1). A dieta foi colocada sobre folha de papel, dentro de potes plásticos (14 cm x 14 cm x 05 cm - comprimento, largura e altura, respectivamente) e sobre esse substrato colocadas as posturas realizadas pelos adultos, permitindo que as larvas, ao eclodirem, encontrem facilmente o alimento. Após a passagem das larvas para o estágio pupal, estas foram transferidas para os frascos de vidro (11 cm x 17 cm - diâmetro e altura, respectivamente), contendo no interior papel liso sanfonado para postura.

Completando o ciclo da criação, as posturas foram retiradas e transferidas para os potes plásticos (22 cm x 22 cm x 10 cm - comprimento, largura e altura, respectivamente) com dieta, iniciando nova geração de larvas. A criação foi mantida em sala climatizada a $25\pm 2^{\circ}$ C, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de doze horas, e a manutenção realizada em dias alternados, fazendo-se a limpeza dos recipientes, coleta de posturas e adição de dieta.

Tabela 1. Ingredientes para dieta artificial de *Galleria mellonella*.

Ingredientes	Quantidade (g)
Farelo de trigo	200
Farinha de trigo	200
Gérmen de trigo	200
Leite em pó desnatado	400
Levedura de cerveja	120
Glicerina	130
Mel	240
Água destilada	20 mL (caso necessário)

Fonte: Dolinski²

2.2 Manutenção dos nematoides

Para a produção *in vivo*, dez larvas de 5º instar de *G. mellonella* foram colocadas em placas de Petri de nove cm de diâmetro contendo duas folhas de papel filtro e foram inoculadas com aproximadamente vinte Juvenis Infectantes (JI's) /larva e mantidas em câmara climatizada $25\pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de doze horas.

Após um período de dois dias, as larvas mortas foram retiradas e colocadas em câmara seca (placa de Petri com papel filtro) onde permaneceram por cinco dias, também em câmara climatizada, para desenvolvimento dos nematoides e observação da sintomatologia característica da infecção, sendo que as larvas ficaram ligeiramente encurvadas e com coloração vermelha acentuada para os nematoides do gênero *Heterorhabditis* e de coloração marrom para nematoides do gênero *Steinernema*.

Em seguida, as larvas foram colocadas em Armadilhas de White (White, 1927), que consiste de uma placa de Petri de nove cm de diâmetro com um pedaço de material acrílico fixado no centro da placa, sobre o qual

² DOLINSKI, C. **Comunicação pessoal**, Campos dos Goytacazes (RJ), 08 de setembro de 2005.

foi colocada uma folha de papel filtro, onde foram depositadas as larvas mortas e já incubadas por cinco dias em câmara seca. A armadilha recebeu ainda cerca de 2 mL de água destilada e a umidade estimulou a saída dos nematoides, que ficaram suspensos na água, de onde foram recolhidos diariamente durante cinco dias (DUTKY; THOMPSON; CANTWELL, 1964).

2.3 Amostragem de ninfas de cigarra-do-cafeeiro e eficiência de controle

A amostragem foi realizada com auxílio de enxadão, abrindo-se duas plantas por tratamento, ou seja, foram abertas quarenta e oito plantas e contado o número de ninfas vivas de cigarras. A amostragem de cigarras consiste em cavar uma trincheira de aproximadamente um metro de comprimento por quarenta cm de profundidade e estimado o número total de cigarras multiplicando-se por dois o valor obtido na trincheira escavada. Depois de verificada infestação na área, o experimento foi instalado.

O experimento foi conduzido em cafezal no município de Lavras/MG (21°14' S e 45°00' O) entre o período de 20/11/2009 e 20/01/2010 com a cultivar Catucaí, em plantas adultas de seis anos de idade. O delineamento foi em blocos casualizados, constando de quatro blocos com seis tratamentos, sendo seis plantas em cada parcela. Os tratamentos foram:

- (1) suspensão aquosa de *Heterorhabditis* sp. JPM4;
- (2) enterrio de lagarta de *G. mellonella* infectada com *S. riobrave* (cinco lagartas/planta);
- (3) enterrio de lagarta de *G. mellonella* infectada com *Heterorhabditis* sp. JPM4 (cinco lagartas/planta);
- (4) Imidaclopride (5000g/ha);
- (5) Tiametoxan (1000g/ha);
- (6) Testemunha, com aplicação de água.

Para ambos, os nematoides utilizados foram cem juvenis infectantes/cm² em suspensão aquosa. A avaliação foi realizada aos trinta e

sessenta dias após aplicação. Nas duas avaliações foram realizadas escavações na trincheira das plantas e contado o número de insetos vivos.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) e os dados analisados pelo programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2008). A eficiência de controle foi determinada pela fórmula de Abbott (1925).

2.4 Amostragem de solo antes da instalação do experimento e trinta e sessenta dias após instalação

Durante a amostragem de insetos na área experimental foi realizada coleta de solo para verificação de nematoides entomopatogênicos (NEP). As amostras foram feitas com auxílio de uma pá de jardim, coletando-se cerca de 500 g de solo, colocados em pacotes plásticos com capacidade para 1 litro e levados ao laboratório de Patologia de Insetos da UFLA.

Estas coletas foram feitas no colo das plantas, antes (prévia) e depois (trinta e sessenta dias) das aplicações.

No dia seguinte, estas amostras foram colocadas em recipientes plásticos de formato retangular com tampa e com capacidade para 300g, sendo descartado o excesso do material. Junto ao recipiente foram adicionadas duas lagartas de *G. mellonella* para verificar a persistência ou existência do NEP no solo, observando a sintomatologia e posterior confirmação de nematoides nas lagartas, assim colocadas em câmara climatizada.

Após dois dias, foram abertos os recipientes e as lagartas mortas transferidas para placas de Petri de cinco cm diâmetro, onde foram abertas cinco dias após o período para os nematoides reproduzirem dentro do hospedeiro. A dissecação para confirmação do agente de mortalidade foi realizada com auxílio de microscópio estereoscópico com bisturi e agulha histológica.

3 Resultados e discussão

As avaliações foram realizadas trinta e sessenta dias após instalação do experimento.

3.1 Amostragem de ninfas de cigarra-do-cafeeiro e eficiência de controle

O número de insetos vivos na coleta de amostragem corrobora para uma área infestada e depois dessa verificação pode-se instalar o experimento. Na primeira análise, com trinta dias após aplicação (DAA), não houve diferença significativa, mesmo o tratamento testemunha tendo mais que o dobro do número de insetos referente ao tratamento com o inseticida tiametoxan (Tabela 2).

O inseticida Tiametoxan obteve eficiência de controle acima de 60%, controlando razoavelmente a praga. Este inseticida tem potencial de controle para insetos de hábitos crípticos, como mostrado no trabalho de Teixeira et al. (2002), em que obtiveram resultados relevantes em casa-de-vegetação (100%) e campo (80%) para o controle da cochonilha-da-raiz-da-videira (Hemiptera: Margarodidae).

A aplicação feita na forma de lagarta infectada pelo nematoide entomopatogênico *Heterorhabditis* sp. JPM4 obteve acima de 45% de eficiência de controle (Tabela 2). Este resultado é interessante, tratando-se apenas uma aplicação deste tratamento e ainda sob condições adversas considerando organismo vivo e suscetível aos fatores abióticos (Figuras 1 e 2).

Como mostram as figuras 1 e 2, os meses entre novembro de 2009 e janeiro de 2010 apresentaram maior ocorrência de chuvas. O solo úmido favorece a locomoção dos NEP, entretanto após aplicação, períodos de chuvas intensas (quase 300 mm de chuva em dezembro) podem atrapalhar a infectividade dos mesmos por serem arrastados pela enxurrada.

Tabela 2. Número médio de insetos vivos por planta ($X \pm EP$) e eficiência de controle de *Quesada gigas*, aos trinta dias após aplicação em campo sob cafeeiro convencional.

Tratamentos	Prévia	Nº médio	
		insetos/planta aos 30 DAA ¹	Eficiência %
JPM4 SA	27,50 ± 6,5	37,00 ± 9,7	17,78
JPM4 LI	13,50 ± 3,4	24,50 ± 12,5	45,56
SR LI	28,50 ± 2,2	28,50 ± 9,5	36,67
Tiametoxan	15,50 ± 6,1	16,50 ± 5,0	63,33
Imidaclopride	33,00 ± 8,6	38,00 ± 11,2	15,56
Testemunha	20,00 ± 8,8	45,00 ± 13,2	---

¹ Não houve diferença estatística pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Legenda: JPM4 SA = *Heterorhabditis* sp. JPM4 Suspensão aquosa;

JPM4 LI = *Heterorhabditis* sp. JPM4 Lagarta infectada;

SR LI = *Steinernema riobrave* Lagarta infectada;

Com sessenta dias após aplicação, houve diferença significativa e destaque ao produto fitossanitário tiametoxan com 100% de eficiência de controle às ninfas de cigarras-do-cafeeiro, muito superior ao outro produto químico, imidaclopride, que obteve apenas 14% e foi também inferior aos tratamentos com NEP, sendo que o *Heterorhabditis* sp. JPM4 lagarta infectada obteve 78% de eficiência, assim como suspensão aquosa para o mesmo nematoide com eficiência de 46%. Entretanto, o NEP *S. riobrave* na forma de lagarta infectada não obteve eficiência, já que foi encontrado maior número de insetos vivos (Tabela 3).

O nematoide entomopatogênico (NEP) *Heterorhabditis* sp. JPM4 possui alta persistência em campo, mesmo diante de condições adversas (Figuras 1 e 2). Como consta nos trabalhos de (PUZA; MRÁČEK, 2005), umidade e temperatura são fatores que afetam os NEP, mas podem ser controlados nos experimentos instalados em laboratório e casa-de-vegetação, o que difere quando experimentos desse porte são instalados em campo. Silva (2007) testou este nematoide contra cigarras-do-cafeeiro em

laboratório e obteve resultados acima de 40%, permitindo afirmar que o nematoide possui boa virulência perante esta praga de solo.

Tabela 3. Número médio de insetos vivos por planta ($X \pm EP$) e eficiência de controle de *Quesada gigas*, aos sessenta dias após aplicação em campo sob cafeeiro convencional.

Tratamentos	Prévia	Nº médio	
		insetos/planta aos 60 DAA	Eficiência %
JPM4 SA	27,50 ± 6,5	7,50 ± 5,5ab	46,43
JPM4 LI	13,50 ± 3,4	3,00 ± 1,00ab	78,57
SR LI	28,50 ± 2,2	22,50 ± 5,0b	0,00
Tiametoxan	15,50 ± 6,1	00,0 ± 0,0a	100,00
Imidaclopride	33,00 ± 8,6	12,0 ± 5,00ab	14,29
Testemunha	20,00 ± 8,8	14,00 ± 6,6ab	---

¹ Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Legenda: JPM4 SA = *Heterorhabditis* sp. JPM4 Suspensão aquosa;
 JPM4 LI = *Heterorhabditis* sp. JPM4 Lagarta infectada;
 SR LI = *Steinernema riobrave* Lagarta infectada;

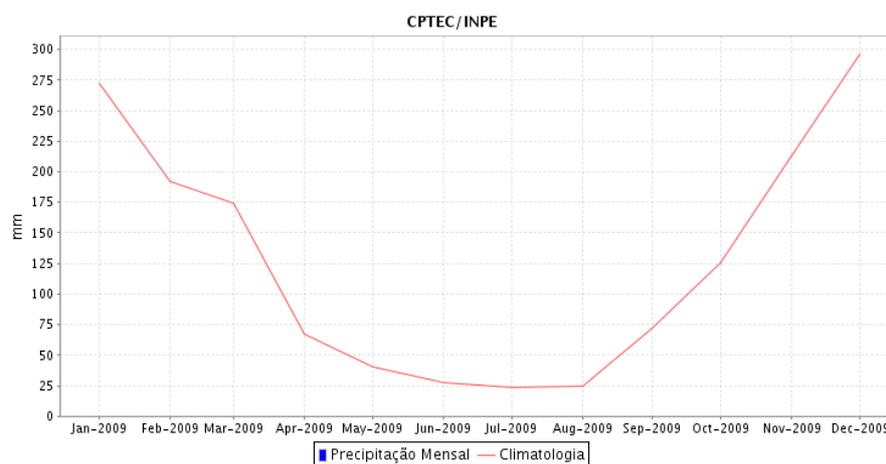


Figura 1. Dados climáticos (precipitação) durante o período de instalação e manutenção do experimento, novembro de 2009, Lavras-MG. INPE, 2010. Fonte: INPE, (2010).

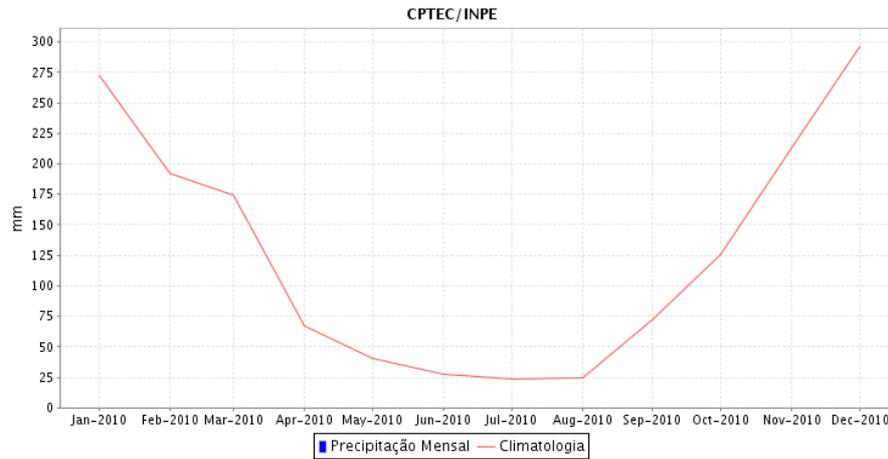


Figura 2. Dados climáticos (precipitação) durante o período de instalação e manutenção do experimento, janeiro de 2010, Lavras-MG. INPE, 2010. Fonte: INPE, (2010).

3.2 Amostragem de solo antes da instalação do experimento e trinta e sessenta dias após instalação

Durante a amostragem de ninfas de cigarra-do-cafeeiro antes da instalação do experimento, a coleta de solo não apresentou NEP depois do procedimento realizado com lagartas sadias de *G. mellonella* (Tabela 4). Dessa forma, corrobora que a área experimental estava isenta de NEP, o que poderia causar erro durante a liberação dos nematoides entomopatogênicos dos tratamentos testados.

Tabela 4. Porcentagem do número de confirmações de lagartas infectadas por nematoides entomopatogênicos provenientes das amostras de solo antes das aplicações (prévia), 30 DAA e 60 DAA, Lavras-MG.

		Prévia	30 DAA	60 DAA
T1	<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM4 Suspensão aquosa	0	0	0
T2	<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM4 Lagarta infectada	0	68,75	37,50
T3	<i>Steinernema riobrave</i> Lagarta infectada	0	18,75	12,50
T4	Tiametoxan	0	0	0
T5	Imidaclopride	0	0	0
T6	Testemunha	0	0	0

Com trinta dias após aplicação (DAA) as amostras revelaram resultados em que as porcentagens foram interessantes, constatando que os nematoides liberados foram recapturados (Tabela 4). Houve uma maior recaptura de nematoides *S. riobrave*, podendo-se constatar que este NEP tem uma boa condição de persistência no ambiente, mesmo sendo um nematoide exótico. Koppenhöfer e Fuzy (2006) obtiveram resultados satisfatórios com o *S. glaseri*, porém com uma duração mais curta do que *S. scarabaei*.

Os tratamentos com inseticidas químicos e a testemunha não apresentaram NEP, corroborando que não houve aplicação nestes tratamentos, assim como não havia nematoides na área de experimento. Entretanto, entre os tratamentos com NEP, ocorreu que o *Heterorhabditis* sp. JPM4 lagarta infectada (T2) teve uma maior recuperação, isso provavelmente devido à forma como estava no campo, sendo os NEP liberados dentro do hospedeiro, fazendo com que fossem liberados aos poucos, garantindo os nematoides dentro do hospedeiro.

O nematoide entomopatogênico *S. riobrave* também obteve sucesso com porcentagem menor, entretanto relevante, pois foi aplicado da mesma forma que o tratamento anterior. Assim, Koppenhöfer e Fuzy (2007) também obtiveram sucesso em recuperar NEP do campo.

Aos sessenta dias após aplicação (DAA), as amostras revelaram que as porcentagens foram acima de 50%, constatando que os nematoides liberados foram recapturados (Tabela 4). Houve uma maior recaptura de

nematoides *S. riobrave*, levando-se a constatar que este NEP tem uma boa condição de persistência no ambiente, mesmo sendo um nematoide exótico e ainda após sessenta dias no campo sob condições climáticas desfavoráveis como forte chuva entre alguns dias.

Alves et al. (2009) obtiveram dados diferentes, sendo que em seu trabalho, os nematoides que tiveram maior recuperação foram aplicados na forma de suspensão aquosa (*Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM4).

4 Conclusões

1. Os nematoides entomopatogênicos são persistentes ao ambiente, sendo recuperados em trinta e sessenta dias após aplicação;
2. O nematoide entomopatogênico *Heterorhabditis* sp. JPM4 foi o mais persistente em campo, sob condições adversas;
3. Metodologias de aplicação devem ser testadas sob condições climáticas com altas precipitações;

5 Referências

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **J. Econ. Entomol.**, v. 18, n. 2, p. 265-7, Apr. 1925.

ALVES, V.S.; MOINO JÚNIOR, A.; SANTA-CECÍLIA, L.V.C.; ROHDE, C.; SILVA, M.A.T. Testes em condições para o controle de *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiro com nematoides entomopatogênicos do gênero *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 53, n. 1, p. 139-43, mar. 2009.

DUTKY, S. R.; THOMPSON, J. V.; CANTWELL, G. E. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. **Journal of Insect Pathology**. v. 6, p. 417-22, 1964.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. Cap. 11. p. 541-67.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**. v. 6, n. 2, p. 36-41, 2008.

GAUGLER, R., I. BROWN, D. SHAPIRO-ILAN e A. ATWA. Automated technology for in vivo mass production of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**. v. 24, n. 2, p. 199-206, Jun. 2002.

GREWAL, P. S.; NARDO, E. A. B.; AGUILLERA, M. Entomopathogenic nematodes: potencial for exploration and use in South América. **Neotropical Entomology**. Londrina, v. 30, n. 2, p. 191-205, Apr./Jun. 2001.

GREWAL, P. S.; EHLERS, R.-U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. (Eds.). **Nematodes as biocontrol agents**. Wallingford; Cambridge: CABI Publishing, 2005. 528 p.

INPE - Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. Disponível em: <<http://bancodedados.cptec.inpe.br/climatologia/Controller>>. Acessado em: 28 Fev. 2011.

KOPPENHOFER, A. M.; BROWN, I.M.; GAUGLER, R.; GREWAL, P.S.; KAYA, H.K.; KLEINS, M.G. Synergism of Entomopathogenic Nematodes and Imidacloprid against White Grubs: greenhouse and field evaluation. **Biological Control**, v. 19, n. 3, p. 245-51, Nov. 2000.

- KOPPENHOFER, A. M.; COWLES, R.S.; COWLES, E.A.; FUZY, E.M.; BAUMGARTNER, L. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes, **Biological Control**, n. 24, p. 90-97, 2002.
- KOPPENHÖFER, A. M.; COWLES, R. S.; COWLES, E. A.; FUZY, E. M.; KAYA, H. K. Effect of neonicotinoid synergists on entomopathogenic nematodes fitness. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, n. 106, p. 7-18, 2003.
- KOPPENHÖFER, A.M. e FUZY, E.M. Effect of soil type on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis zealandica* and *Heterorhabditis bacteriophora*. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 92, n. 92, p.11-22, 2006.
- KOPPENHÖFER, A.M. e FUZY, E.M. Soil moisture effects on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *S. glaseri*, *Heterorhabditis zealandica* and *H. bacteriophora*. **Applied Soil Ecology**. n. 35, p. 128-139. 2007.
- PUZA, V.; MRACEK, Z. Seasonal dynamics of entomopathogenic nematodes of the genera *Steinernema* and *Heterorhabditis* as a response to abiotic factors and abundance of insect hosts. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 89, n. 2, p. 116-22, Jun. 2005.
- REIS, P. R.; SOUZA, J. C.; VENZON, M. Manejo ecológico das principais pragas do cafeeiro, **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 214, p. 83-99, 2002.
- SILVA, M. A. T. **Avaliação de nematoides entomopatogênicos visando o controle da cigarra-do-cafeeiro**. 2007. 49f. Dissertação (Mestrado em Entomologia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- TEIXEIRA, I.; BOTTON, M.; LOECK, A. E. Avaliação de inseticidas visando ao controle de *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel) (Hemiptera: Margarodidae) em novos plantios de videira. **Neotropical Entomology**. v. 31, n. 3, p. 457-61, Jul-Set. 2002.
- WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, v. 66, n. 1709, p. 302-3, Sep. 1927.

CAPÍTULO 3

Persistência de *Heterorhabditis* sp. JPM4 e *Steinernema riobrave* e eficácia de diferentes métodos de aplicação em cafeeiro de cultivo convencional contra cigarra-do-cafeeiro *Quesada gigas* (Hemiptera: Cicadidae)

RESUMO

Cigarras-do-cafeeiro são insetos-praga de solo com hábitos crípticos e de difícil controle, pois escavam em profundidades que impedem a locomoção de predadores e outros organismos potenciais agentes de controle, o que torna o controle químico o método mais usado. Os nematoides entomopatogênicos são organismos de relevante importância para o controle biológico, com vários casos de sucesso devido às suas características peculiares, necessitando ainda de estudos que permitam o aprimoramento das técnicas de aplicação em campo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a persistência dos NEP aplicados com o uso de pulverizador costal manual utilizado comumente para inseticidas químicos, e sua comparação com outras formas de aplicação. O experimento foi conduzido em cafezal no município de Lavras/MG, com a cultivar Catucaí, em plantas adultas de quinze anos de idade, em área experimental isenta de inseticidas químicos durante cerca de dez anos. O delineamento foi em blocos casualizados, constando de quatro blocos com sete tratamentos, sendo seis plantas em cada parcela. Os tratamentos foram: (1) suspensão aquosa de *Heterorhabditis* sp. JPM4, aplicado via Drench; (2) aplicador manual costal com suspensão aquosa de *Heterorhabditis* sp. JPM4; (3) enterrio de lagarta de *Galleria mellonella* infectada com *Heterorhabditis* sp. JPM4 (cinco lagartas/planta); (4) enterrio de lagarta de *Galleria mellonella* infectada com *Steinernema riobrave* (cinco lagartas/planta); (5) Tiametoxan (1000 g/ha); (6) Testemunha, com aplicação de água. Foram utilizados cem juvenis infectantes/cm² em suspensão aquosa, e a avaliação foi realizada aos quinze e trinta dias após aplicação. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). A eficiência de controle foi determinada pela fórmula de Abbott (1925). Os resultados obtidos reforçaram as características de eficiência e persistência obtidas no experimento anterior, em relação ao nematoide entomopatogênico *Heterorhabditis* sp. JPM4, bem como o fato de que a metodologia testada

com pulverizador manual costal proporcionou 56 e 51% de eficiência aos quinze e trinta dias após aplicação, respectivamente.

Palavras-chave: Controle biológico; Praga do cafeeiro; Eficiência; Técnica de aplicação.

ABSTRACT

Cicadas are subterranean insect pests with cryptic habits and difficult to control because they dig to depths that prevent the movement of predators and other organisms potential control agents, which makes chemical control the most popular. The nematodes are entomopathogenic organisms of major importance for biological control, with several cases of success due to its specific characteristics and needs further studies to improve mortality at field application. The objective of this study was to evaluate the persistence of NEP applied using manual backpack sprayer for insecticides commonly used with chemicals, and its comparison with other forms of application. The experiment was conducted on coffee trees in the city of Lavras/MG, with the cultivar Catucaí in adult plants of 15 years old in an experimental area free of chemical insecticides for about 10 years. The design was a randomized block consisting of four blocks with seven treatments, six plants in each plot. The treatments were: (1) aqueous suspension of *Heterorhabditis* sp. JPM4 applied via Drench, (2) manual backpack sprayer with aqueous suspension of *Heterorhabditis* sp. JPM4, (3) buried *Galleria mellonella* larvae infected with *Heterorhabditis* sp. JPM4 (five larvae/plant), (4) buried *Galleria mellonella* larvae infected with *Steinernema riobrave* (five larvae/plant), (5) Tiametoxan (1000 g/ha) (6) Control, with water application. A total of 100 infective juveniles/cm² in aqueous suspension were used, and the evaluation was performed at 15 and 30 days after application. Data were subjected to analysis of variance and averages compared by Tukey test ($P \leq 0.05$). The control efficiency was determined by the formula of Abbott (1925). The results reinforced the persistence and efficiency characteristics obtained in the previous experiment, in relation to the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis* sp. JPM4 as well as the fact that the methodology with the manual backpack sprayer tested provided 56 and 51% efficiency at 15 and 30 days after application, respectively.

Keywords: Biological control; Coffee pest; Efficiency; Application technique.

1 Introdução

Os nematoides entomopatogênicos (NEP) são organismos de relevante importância para o controle biológico com vários casos de sucesso no Brasil e no mundo (GREWAL; NARDO; AGUILLERA, 2001; GEORGES et al., 2006). Não afetam as plantas e animais superiores, sendo específicos para insetos (FERRAZ, 1998; GAUGLER et al., 2002), o que os torna alvo de pesquisas recentes.

Uma das principais vantagens desse grupo é não causar impacto ambiental (KOPPENHÖFER et al., 2000; 2002; 2003), diferentemente de produtos fitossanitários.

Cigarras-do-cafeeiro são insetos-praga de solo com hábitos crípticos e de difícil controle, pois escavam profundidades o que impede a locomoção de predadores para controle desta praga (REIS; SOUZA; VENZON, 2002). O controle químico é o mais usado, porém há condições adequadas de uso de produtos fitossanitários, uma vez que não podem ser utilizados em cultivos orgânicos, fazendo com que o produtor busque outras formas de controle (SILVA, 2007).

A pesquisa busca estudar formas de aplicação dos nematoides entomopatogênicos (NEP), de maneira eficaz e menos onerosa, visto que ainda não se tem um produto à base destes agentes biológicos.

Assim, os estudos com este foco são importantes para que a forma de aplicação deste agente possa ser melhorada, bem como aprimorar as técnicas de aplicação em campo.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a persistência dos nematoides entomopatogênicos (NEP) aplicados principalmente na forma do pulverizador costal manual utilizado comumente para inseticidas químicos, como controle da cigarra-do-cafeeiro *Quesada gigas* em cultivo de cafeeiro convencional.

2 Material e métodos

Os isolados utilizados foram obtidos do Banco de Entomopatógenos do laboratório de Patologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Após a produção, os isolados foram mantidos em frascos Erlenmeyer, em câmara climatizada sob temperatura de 16°C, em suspensão aquosa.

Para a instalação dos experimentos, a multiplicação foi feita pelo método *in vivo* em larvas do último ínstar de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), provenientes do laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da UFLA.

2.1 Manutenção de *Galleria mellonella*

Para o preparo da dieta (Tabela 1, vide capítulo 2), misturam-se todos os ingredientes. A dieta foi colocada sobre folha de papel, dentro de potes plásticos (14 cm x 14 cm x 05 cm - comprimento, largura e altura, respectivamente) e sobre esse substrato colocadas as posturas realizadas pelos adultos, permitindo que as larvas, ao eclodirem, encontrem facilmente o alimento. Após a passagem das larvas para o estágio pupal, elas foram transferidas para os frascos de vidro (11 cm x 17 cm - diâmetro e altura, respectivamente), contendo no interior papel liso sanfonado para postura.

Completando o ciclo da criação, as posturas foram retiradas e transferidas para os potes plásticos (22 cm x 22 cm x 10 cm - comprimento, largura e altura, respectivamente) com dieta, iniciando nova geração de larvas. A criação foi mantida em sala climatizada a 25±2°C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de doze horas, e a manutenção realizada em dias alternados, fazendo-se a limpeza dos recipientes, coleta de posturas e adição de dieta.

2.2 Manutenção dos nematoides

Para a produção *in vivo*, dez larvas de 5º instar de *G. mellonella* foram colocadas em placas de Petri de nove cm de diâmetro contendo papel filtro duplo e as larvas foram inoculadas com aproximadamente vinte Juvenis Infectantes (JI's) /larva e mantidas em câmara climatizada a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de doze horas.

Após um período de dois dias, as larvas mortas foram retiradas e colocadas em câmara seca (placa de Petri com papel filtro) onde permaneceram por cinco dias, também em câmara climatizada, para desenvolvimento dos nematoides e observação da sintomatologia característica da infecção, sendo que as larvas ficam ligeiramente encurvadas e de coloração vermelha acentuada para os nematoides do gênero *Heterorhabditis* e de coloração marrom para nematoides do gênero *Steinernema*.

Em seguida, as larvas foram colocadas em Armadilhas de White (White, 1927), que consiste de uma placa de Petri de nove cm de diâmetro com um pedaço de material acrílico fixado no centro da placa, sobre o qual foi colocada uma folha de papel filtro, onde foram depositadas as larvas mortas e já incubadas por cinco dias em câmara seca. A armadilha recebeu ainda cerca de 2 mL de água destilada e a umidade estimulou a saída dos nematoides, que ficaram suspensos na água, de onde foram recolhidos diariamente durante cinco dias (DUTKY; THOMPSON; CANTWELL, 1964).

2.3 Amostragem de ninfas de cigarra-do-cafeeiro e eficiência de controle

A amostragem foi realizada com auxílio de enxadão, abrindo-se duas plantas por tratamento, ou seja, foram abertas quarenta e oito plantas e contado o número de ninfas vivas de cigarras. A amostragem de cigarras consiste em cavar uma trincheira de aproximadamente um metro de comprimento por quarenta cm de profundidade e estimado o número total de

cigarras multiplicando-se por dois, o valor obtido na trincheira escavada. Depois de verificada infestação na área, o experimento foi instalado.

O experimento foi conduzido em cafezal no município de Lavras/MG (21°14' S e 45°00' O) entre o período de 30/10/2010 e 30/11/2010 com a cultivar Catucaí, em plantas adultas de quinze anos de idade. A área experimental foi escolhida nesta localidade porque estava isenta de inseticidas químicos durante cerca de dez anos. O delineamento foi em blocos casualizados, constando de quatro blocos com sete tratamentos, sendo seis plantas em cada parcela. Os tratamentos foram:

- (1) suspensão aquosa de *Heterorhabditis* sp. JPM4, aplicado via Drench;
- (2) aplicador manual costal com suspensão aquosa de *Heterorhabditis* sp. JPM4;
- (3) enterrio de lagarta de *Galleria mellonella* infectada com *Heterorhabditis* sp. JPM4 (cinco lagartas/planta);
- (4) enterrio de lagarta de *Galleria mellonella* infectada com *Steinernema riobrave* (cinco lagartas/planta);
- (5) Tiametoxan (1000 g/ha);
- (6) Testemunha, com aplicação de água.

Para os tratamentos com nematoides via líquida foram utilizados cem juvenis infectantes/cm² em suspensão aquosa. A avaliação foi realizada aos quinze e trinta dias após aplicação. Nas duas avaliações foram realizadas escavações na trincheira das plantas e contado o número de insetos vivos.

O tratamento com aplicador manual costal, modelo Jacto, foi utilizado liberando uma pulverização com 200 mL de produto durante três segundos de aplicação, sem bico pulverizador, assemelhando-se ao esguicho. Pré-testes foram realizados para que se chegasse neste tempo de aplicação com a quantidade correta de nematoides liberados no colo da planta.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) e os dados analisados pelo

programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2008). A eficiência de controle foi determinada pela fórmula de Abbott (1925).

2.4 Amostragem de solo antes da instalação do experimento e trinta e sessenta dias após instalação

Durante a amostragem de insetos na área experimental foi realizada coleta de solo para verificação de nematoides entomopatogênicos. As amostras foram feitas com auxílio de uma pá de jardim, coletando-se cerca de 500 g de solo, colocados em pacotes plásticos com capacidade para um litro e levados ao laboratório de Patologia de Insetos da UFLA.

Estas coletas foram feitas no colo das plantas antes (prévia) e depois (quinze e trinta dias) das aplicações.

No dia seguinte, estas amostras foram colocadas em recipientes plásticos de formato retangular com tampa e com capacidade para 300 g, sendo descartado o excesso do material. Junto ao recipiente foram adicionadas duas lagartas de *G. mellonella* para observação da sintomatologia e posterior confirmação de nematoides nas lagartas, e assim colocadas em câmara climatizada.

Após dois dias, foram abertos os recipientes e as lagartas mortas transferidas para placas de Petri de cinco cm diâmetro, onde foram abertas cinco dias após o período para os nematoides reproduzirem dentro do hospedeiro. A dissecação para confirmação do agente de mortalidade foi realizada com auxílio de microscópio estereoscópico, com bisturi e agulha histológica.

3 Resultados e discussão

As avaliações foram realizadas quinze e trinta dias após instalação do experimento.

3.1 Amostragem de ninfas de cigarra-do-cafeeiro e eficiência de controle

O número de insetos vivos na coleta de amostragem corrobora para uma área infestada e depois dessa verificação pode-se instalar o experimento. Na primeira análise, com quinze dias após aplicação (DAA), houve destaque para o inseticida tiametoxan (T6) com a maior eficiência de controle, de 72% (Tabela 5). Entretanto, os outros tratamentos também obtiveram resultados interessantes, principalmente o JPM4 aplicado via pulverizador costal (T2), atingindo eficiência de controle de 56,44%. Esta porcentagem é relevante porque mostra o potencial dessa forma de aplicação para nematoides entomopatogênicos (NEP).

Vale lembrar que a instalação do experimento foi realizada durante um período sem chuva, em contrapartida dois dias após aplicação choveu 27 mm (01/11) e 42 mm (02/11), o que com certeza, prejudicou a eficiência ainda maior do tratamento JPM4, assim como de todos outros (Figura 3).

As temperaturas - máxima e mínima - oscilaram bastante, embora os valores registrados no mês de novembro, muito provavelmente não afetaram os NEP (Figuras 4 e 5).

Todos os tratamentos tiveram resultados satisfatórios acima de 30%, o que compreende tendência na eficiência de controle destes nematoides.

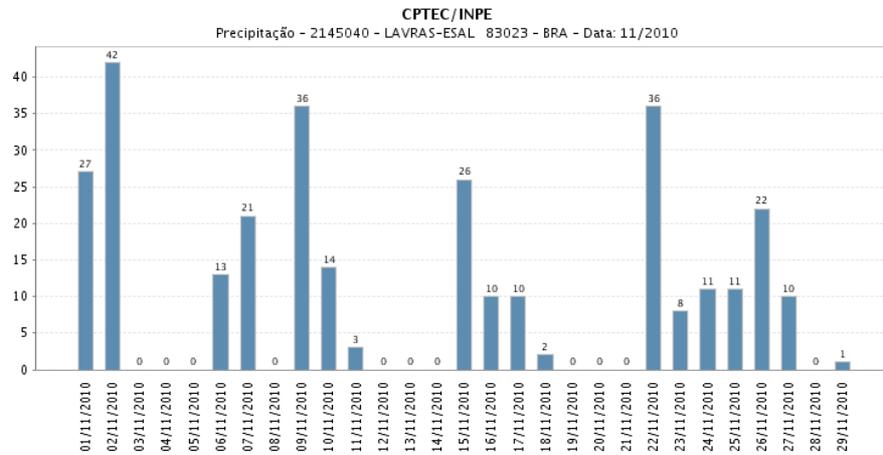


Figura 3. Dados climáticos (precipitação) durante o período de instalação e manutenção do experimento, novembro de 2010, Lavras-MG. Fonte: INPE, (2010).

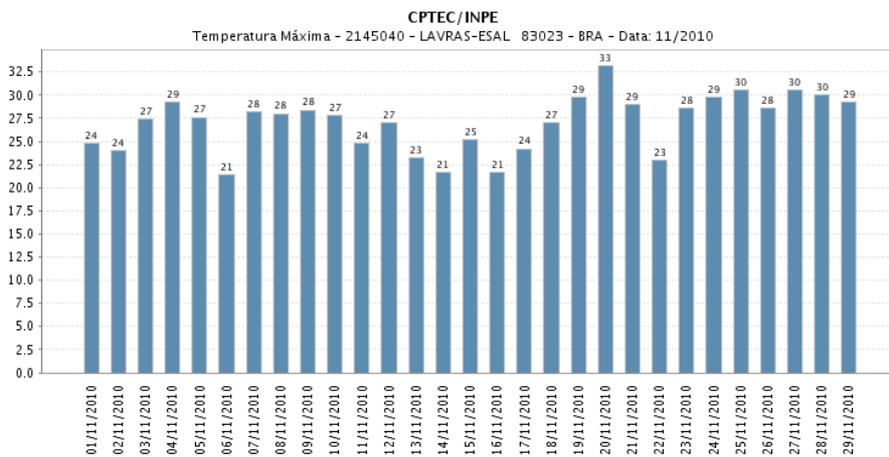


Figura 4. Dados climáticos (temperatura máxima) durante o período de instalação e manutenção do experimento, novembro de 2010, Lavras-MG. Fonte: INPE, (2010).

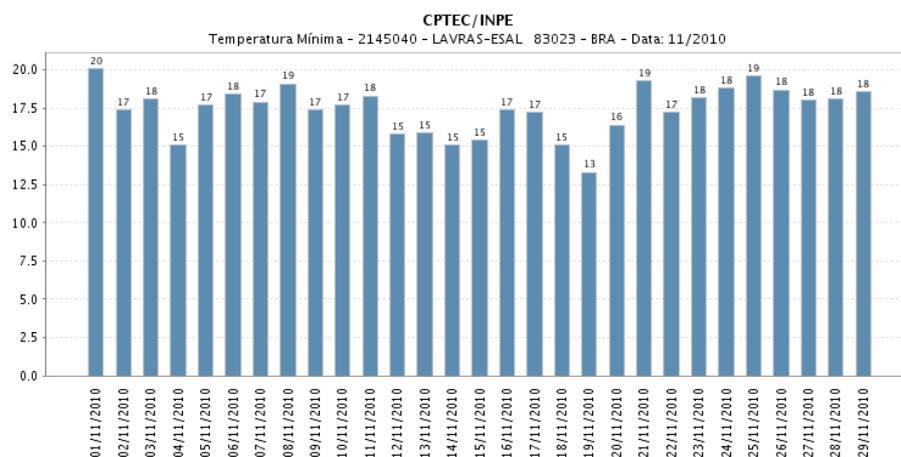


Figura 5. Dados climáticos (temperatura mínima) durante o período de instalação e manutenção do experimento, novembro de 2010, Lavras-MG. Fonte: INPE, (2010).

Tabela 5. Número médio de insetos vivos por planta ($X \pm EP$) e eficiência de controle de *Quesada gigas*, aos quinze dias após aplicação em campo sob cafeeiro convencional.

Tratamentos	Prévia	Nº médio	
		insetos/planta aos 15 DAA ¹	Eficiência %
T1	JPM4 Drench	11,75±3,1	30,69
T2	JPM4 Costal	20,75±5,2	56,44
T3	JPM4 LI	15,50±3,8	37,62
T4	SR LI	18,75±3,1	45,54
T5	Tiametoxan	13,75±2,0	72,28
T6	Testemunha	14,00±2,9	---

¹ Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Legenda: JPM4 Drench = *Heterorhabditis* sp. JPM4 Drench;
 JPM4 Costal = *Heterorhabditis* sp. JPM4 aplicado com pulverizador costal manual modelo Jacto.
 JPM4 LI = *Heterorhabditis* sp. JPM4 Lagarta infectada;
 SR LI = *Steinernema riobrave* Lagarta infectada;

Com trinta dias após aplicação (DAA), houve maior eficiência do tratamento tiametoxan + clorantprilprole (T5), chegando a 86%. Este é um novo inseticida químico lançado para controle de cigarras e que ainda está em lançamento, sendo alvo de pesquisas em lavouras cafeeiras.

Para o tratamento com *Heterorhabditis* sp. JPM4 Costal (T2) houve diminuição de controle em relação aos quinze dias após aplicação (DAA), porém ainda obteve 51% de eficiência (Tabela 6). Entretanto, vale ressaltar que choveram dez dias entre a primeira avaliação e a última (Figura 4), inclusive a segunda avaliação foi sob forte chuva, podendo assim ter influenciado nos valores obtidos.

É interessante também mencionar o sucesso dos tratamentos nematoides comparados aos tratamentos químicos, visto que todos os tratamentos NEP foram iguais ao tratamento tiametoxan (T6), o que iguala seu potencial de eficiência para controle da cigarra-do-cafeeiro.

Tabela 6. Número médio de insetos vivos por planta ($X \pm EP$) e eficiência de controle de *Quesada gigas*, aos trinta dias após aplicação em campo sob cafeeiro convencional.

Tratamentos	Prévia	Nº médio	
		insetos/planta aos 15 DAA ¹	Eficiência %
T1	JPM4 Drench	11,75±3,1	52,27
T2	JPM4 Costal	20,75±5,2	51,14
T3	JPM4 LI	15,50±3,8	40,91
T4	SR LI	18,75±3,1	34,09
T5	Tiametoxan	13,75±2,0	60,23
T6	Testemunha	14,00±2,9	---

¹ Não houve diferença estatística.

Legenda: JPM4 Drench = *Heterorhabditis* sp. JPM4 Drench;
 JPM4 Costal = *Heterorhabditis* sp. JPM4 aplicado com pulverizador costal manual modelo Jacto.
 JPM4 LI = *Heterorhabditis* sp. JPM4 Lagarta infectada;
 SR LI = *Steinernema riobrave* Lagarta infectada;

3.2 Amostragem de solo antes da instalação do experimento e quinze a trinta dias após instalação

Durante a amostragem de ninfas antes da instalação do experimento, a coleta de solo não apresentou nematoides entomopatogênicos (NEP), depois do procedimento realizado com lagartas sadias de *G. mellonella* (Tabela 7). Dessa maneira, fortifica que a área experimental estava isenta de NEP, o que poderia causar erro durante a liberação dos nematoides dos tratamentos testados.

Tabela 7. Porcentagem do número de confirmações de lagartas infectadas por nematoides entomopatogênicos provenientes das amostras de solo antes das aplicações (prévia), 30 DAA e 60 DAA, Lavras-MG.

		Prévia	30 DAA	60 DAA
T1	<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM4 Drench	0	43,75	25,00
T2	<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM4 Costal	0	75,00	37,50
T3	<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM4 Lagarta infectada	0	68,75	18,75
T4	<i>Steinernema riobrave</i> Lagarta infectada	0	50,00	18,75
T5	Tiametoxan	0	0	0
T6	Testemunha	0	0	0

Na primeira avaliação, com quinze dias após aplicação (DAA) as amostras revelaram resultados interessantes, pois as porcentagens foram significantes, constatando que os nematoides liberados foram recapturados (Tabela 7). Houve uma maior recaptura de nematoides *Heterorhabditis* sp. JPM4, principalmente no tratamento correspondente ao pulverizador costal manual (T2), verificando-se que este NEP tem uma boa condição de persistência no ambiente. Wilson et al. (2003) testaram formas de liberação de nematoides (*Heterorhabditis bacteriophora*), com distribuições espaciais diferentes, embora analisando num período de um ano, os resultados foram similares entre seus tratamentos, havendo declínio dos nematoides conforme o tempo de recaptura.

Há alguns trabalhos como de Susurluk e Ehlers (2008) que mostram o *Heterorhabditis bacteriophora* sendo recuperado depois de vinte e três meses da liberação em campo na cultura do feijão.

Os tratamentos com inseticidas químicos e a testemunha não apresentaram NEP, corroborando que não houve aplicação nestes tratamentos, assim como não havia nematoides na área experimental. Entretanto, *Heterorhabditis* sp. JPM4 lagarta infectada (T3) teve uma maior recuperação, isso provavelmente devido à forma como estava no campo, sendo os NEP liberados dentro do hospedeiro, fazendo com que fossem liberados aos poucos (Tabela 7).

O nematoide entomopatogênico *S. riobrave* (T4) também obteve sucesso com porcentagem menor, entretanto relevante, pois foi aplicado da mesma forma que o tratamento anterior. Kaspi et al. (2010) obtiveram resultados eficazes quando testando o nematoide sob diferentes tipos de solo, assim como textura e características do solo são fatores que podem influenciar a eficiência deste nematoide.

O tratamento sob pulverizador costal manual obteve boa recuperação de nematoides, além da sua eficiência de controle, sendo recapturado nematoide em todas as amostras (7). O método a ser escolhido para aplicação do nematoide precisa ser estudado para ter melhor eficiência de controle do nematoide. Toepfer et al. (2010) estudaram alguns métodos de aplicação do *H. bacteriophora* para controle da *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae), obtendo resultados de diminuição da praga. Dentre os métodos, houve maior destaque para jatos e pulverizadores dirigidos no colo da planta.

Depois do período de trinta dias após aplicação (DAA), as amostras de solo foram prejudicadas pelo excesso de chuva durante o dia da avaliação. Umidade pode influenciar negativamente na sobrevivência dos nematoides, assim como radiação ultravioleta e temperatura do solo (SHAPIRO-ILAN et al., 2006; KOPPENHÖFER; FUZY, 2007). Mesmo assim, com o solo

encharcado pode-se obter valores satisfatórios com as porcentagens de recaptura dos NEP (Tabela 7).

Houve maior recaptura de nematoides heterorhabditídeos com destaque para os tratamentos *Heterorhabditis* sp. JPM4 Drench (T1) e *Heterorhabditis* sp. JPM4 Costal (T2). A técnica via Drench é muito promissora no controle de insetos-praga de solo, como afirmam Brixey; Moore e Milner (2006), sendo mais eficiente do que pulverização sob a superfície, contra o gorgulho *Hylobius abietis* (Coleoptera: Curculionidae).

Para ambos os tratamentos aplicados na forma de lagarta infectada, *Heterorhabditis* sp. JPM4 lagarta infectada (T3) e *S. riobrave* lagarta infectada (T4), houve menor recuperação, acreditando-se que a enxurrada desfavoreceu as suas eficiências (Tabela 7).

O gênero *Heterorhabditis* possui persistência em campo, como mostrado no trabalho de Alves et al. (2009) quando obtiveram dados de recuperação dos nematoides aplicados na forma de suspensão aquosa (*Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM4).

Os nematoides entomopatogênicos (NEP) são comumente utilizados em controles inundativos como no caso para o controle de *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae), entretanto há falta de testes com aplicações comerciais (HAUKELAND; LOLA-LUZ, 2010). Metodologias de aplicação específica para NEP, bem como o uso de produtos comerciais no Brasil para este fim, devem ser estudadas.

4 Conclusões

1. Os nematoides entomopatogênicos são persistentes ao ambiente, sendo recuperados em quinze e trinta dias após aplicação;
2. O nematoide entomopatogênico *Heterorhabditis* sp. JPM4 foi o mais persistente em campo, sob condições adversas;
3. Chuvas intensas podem atrapalhar a eficiência dos nematoides entomopatogênicos em campo;
4. A metodologia testada com pulverizador manual costal obteve 56 e 51% de eficiência aos quinze e trinta dias após aplicação, respectivamente.

5 Referências

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**. v. 18, n. 2, p. 265-7, Apr. 1925.

ALVES, V.S.; MOINO JÚNIOR, A.; SANTA-CECÍLIA, L.V.C.; ROHDE, C.; SILVA, M.A.T. Testes em condições para o controle de *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiro com nematoides entomopatogênicos do gênero *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae). **Revista Brasileira Entomology**. v. 53, n. 1, p. 139-43, mar. 2009.

BRIXEY, J. M.; MOORE, R.; MILNER, A. D. Effect of entomopathogenic nematode (*Steinernema carpocasae* Weiser) application technique on the efficacy and distribution of infection of the large pine weevil (*Hylobius abietis* L.) in stumps of Sitka spruce (*Picea sitchensis* Carr.) created at different times. **Forest Ecology and Management**. v. 226, n.1-3, p. 161-72, 2006.

DUTKY, S. R.; THOMPSON, J. V.; CANTWELL, G. E. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. **Journal of Insect Pathology**. v. 6, p. 417-22, 1964.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. Cap. 11. p. 541-67.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**. v. 6, n. 2, p. 36-41, 2008.

GAUGLER, R., I. BROWN, D. SHAPIRO-ILAN e A. ATWA. Automated technology for in vivo mass production of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, v. 24, n. 2, p. 199-206, Jun. 2002.

GEORGIS, R.; KOPPENHÖFER, A.M.; LACEY, L.A.; BÉLAIR, G.; DUNCAN, L.W.; GREWAL, P.S.; SAMISH, M; TAN, L.; TORR, P.; VAN TOL, R.W.H.M. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. **Biological Control**, v. 38, n. 1, p. 103-23, Jun. 2006.

GREWAL, P. S.; NARDO, E. A. B.; AGUILLERA, M. Entomopathogenic nematodes: potencial for exploration and use in South America. **Neotropical Entomology**. Londrina, v. 30, n. 2, p. 191-205, apr./june 2001.

HAUKELAND, S.; LOLA-LUZ, T. Efficacy of the entomopathogenic nematodes *Steinernema kraussei* and *Heterorhabditis megidis* against the

black vine weevil *Otiorynchus sulcatus* in open field-grown strawberry plants. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 12, n. 4, p. 363-69, Nov. 2010.

INPE - Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. Disponível em: <<http://bancodedados.cptec.inpe.br/climatologia/Controller>>. Acessado em: 28 fev. 2011.

KASPI, R.; ROSS, A.; HODSON, A.K.; STEVENS, G.N.; KAYA, H.K.; LEWIS, E.E. Foraging efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema riobrave* in different soil types from California Citrus groves. **Applied Soil Ecology**. v. 45, n. 3, p. 243-53, Jul. 2010.

KOPPENHOFER, A. M.; BROWN, I.M.; GAUGLER, R.; GREWAL, P.S.; KAYA, H.K.; KLEINS, M.G. Synergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against White grubs: greenhouse and field evaluation, **Biological Control**, v. 19, p. 245-251, 2000.

KOPPENHOFER, A. M.; COWLES, R.S.; COWLES, E.A.; FUZY, E.M.; BAUMGARTNER, L. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes, **Biological Control**, n. 24, p. 90-97, 2002.

KOPPENHÖFER, A. M.; COWLES, R. S.; COWLES, E. A.; FUZY, E. M.; KAYA, H. K. Effect of neonicotinoid synergists on entomopathogenic nematodes fitness. **Entomologia Experimentalis et applicata**, n. 106, p. 7-18, 2003.

KOPPENHÖFER, A.M. e FUZY, E.M. Soil moisture effects on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *S. glaseri*, *Heterorhabditis zealandica* and *H. bacteriophora*. **Applied Soil Ecology**. n. 35, p. 128-139. 2007.

REIS, P. R.; SOUZA, J. C.; VENZON, M. Manejo ecológico das principais pragas do cafeeiro, **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 214, p. 83-99, 2002.

SHAPIRO-ILAN, D.I.; GOUGE, D.H.; PIGGOTT, S.J.; FIFE, J.P. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**, v. 38, n. 1, p. 124-33, Jul. 2006.

SILVA, M. A. T. **Avaliação de nematoides entomopatogênicos visando o controle da cigarra-do-cafeeiro**. 2007. 49f. Dissertação (Mestrado em Entomologia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

SUSURLUK, A.; EHLERS, R.-U. Field persistence of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* in different crops. **Biocontrol**. v. 53, n. 4, p. 627-41, 2008.

TOEPFER, S.; HATALA-ZSELLER, I.; EHLERS, R.U.; PETERS, A.; KUHLMANN, U. The effect of application techniques on field-scale efficacy: can the use of entomopathogenic nematodes reduce damage by western corn rootworm larvae? **Agricultural and Forest Entomology**. v. 12, n. 4, p. 389-402, Nov. 2010.

WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**., v. 66, n. 1709, p. 302-3, Sep. 1927.

WILSON, M.J.; LEWIS, E.E.; YODER, F.; GAUGLER, R. Application pattern and persistence of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. **Biological Control**, v. 26, n. 2, p. 180-8, Feb. 2003.

CAPÍTULO 4

Compatibilidade de produtos fitossanitários e nematoides entomopatogênicos para controle da cigarra-do-cafeeiro.

RESUMO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café e a cafeicultura é bastante afetada pelas perdas causadas por insetos-pragas, dos quais se destacam as diversas espécies de cigarras. Dentre as espécies de cigarras-do-cafeeiro, *Quesada gigas* é considerada a mais importante por apresentar maior tamanho e causar danos mais sérios às plantas. O controle químico é predominante, porém a utilização de métodos diversificados como o controle biológico com nematoides entomopatogênicos vem sendo estimulada, e para que seja eficiente é necessário que se conheçam os efeitos dos produtos fitossanitários químicos sobre esses organismos, bem como algum possível efeito sinérgico quando aplicado em conjunto com esses produtos. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi de avaliar a compatibilidade dos produtos fitossanitários mais utilizados na cultura do cafeeiro com nematoides entomopatogênicos. O protocolo IOBC foi utilizado para avaliar a viabilidade e infectividade dos nematoides, por meio de exposição dos nematoides a soluções sendo adicionados dois mil e quinhentos juvenis infectantes em placas de Petri de oito cm de diâmetro e mantidos em câmara climática a $25^{\circ}\text{C}\pm 2$, UR de $70\%\pm 10$ no escuro. As avaliações foram feitas após 48h, para avaliar a viabilidade retirando-se uma alíquota de 0,1 mL e contando-se o número de nematoides viáveis e inviáveis até chegar a 100 JIs, observados sob microscópio estereoscópico. Para avaliação da infectividade, foram utilizadas placas de Petri de oito cm de diâmetro, e colocadas dez lagartas de *G. mellonella*, onde foram aplicados 1,9 mL da solução anterior, sendo que após dois dias as lagartas mortas foram transferidas para placas de Petri com papel filtro e depois de cinco dias dissecadas todas as lagartas que apresentaram sintomatologia característica, com auxílio de agulha histológica e bisturi. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ($P\leq 0,05$). Observou-se que nenhum dos produtos fitossanitários afetou a infectividade dos nematoides. Os produtos Impact 125® e Alto

100® foram os que mais prejudicaram a viabilidade dos nematoides entomopatogênicos.

Palavras-chave: Controle microbiano; Seletividade; Praga do cafeeiro; Controle associado.

ABSTRACT

Brazil is the largest producer and exporter of coffee, and coffee production is greatly affected by the losses caused by insect pests, including and especially the various species of cicadas. Among the species of coffee cicadas, *Quesada gigas* is considered the most important, due to its greater size and cause more serious damage to plants. Chemical control is prevalent, however, the use of diverse methods as biological control with entomopathogenic nematodes has been stimulated, and in order to be efficient, it is necessary to know the effects of chemical pesticides on these organisms, as well as any possible synergistic effect when applied together with these products. The objective of this study was to evaluate the compatibility of pesticides commonly used in coffee plantations with entomopathogenic nematodes. It was used the IOBC protocol to assess the viability and infectivity of the nematodes through their exposure to aqueous solutions with 2500 infective juveniles in Petri dishes of 8 cm in diameter and kept in a climatic chamber at $25 \pm 2^\circ \text{C}$, RH $70 \pm 10\%$ in the dark. Evaluations were made after 48 hours, evaluating the viability retreating at a rate of 0.1 ml and counting the number of viable and unviable nematodes to reach 100 IJS, observed under a stereomicroscope. To evaluate the infectivity, Petri dishes of 8 cm in diameter were used and placed 10 *G. mellonella* larvae, where applied 1.9 mL of the previous solution, and after two days dead larvae were transferred to Petri dishes with filter paper and dissected after five days with the help of histological needle and scalpel those that showed characteristic symptoms. Data were subjected to analysis of variance and averages compared by Tukey test ($P \leq 0.05$). It was observed that none of the pesticides affect the infectivity of the nematodes. Products and Impact 125® Alto 100® were that most damaged the viability of entomopathogenic nematodes.

Keywords: Microbial control; Selectivity; Coffee pests; Associated control.

1 Introdução

Os nematoides entomopatogênicos (NEP) têm demonstrado eficácia no controle de pragas de solo, uma vez que ocupam esse mesmo nicho (SILVA, 2007). Além disso, esses agentes de controle biológico apresentam várias vantagens quando comparados a outros métodos de controle, através da ação sinérgica com outros entomopatógenos e inclusive com produtos fitossanitários, favorecendo seu uso em programas de manejo integrado, frisando que este último método de controle é o mais eficiente até os tempos atuais (FERRAZ, 1998; GREWAL; NARDO; AGUILLERA, 2001).

O controle químico é ainda muito utilizado principalmente nos países que produzem grandes culturas, porém além de custo elevado, o uso abusivo de produtos químicos prejudica o meio ambiente e desencadeia uma série de malefícios como a bioacumulação que pode resultar em custos maiores aos produtores rurais e à população (ALVES et al., 2000; GALLO et al., 2002).

Como outra vantagem, a utilização de NEP vem sendo ampliada pelos diversos trabalhos realizados com estes agentes (POLAVARAPU et al., 2007; SHAPIRO-ILAN et al., 2006; GARCIA; RAETANO; LEITE, 2008), o que ainda pode corroborar o uso e efeito sinérgico, sendo aplicado em conjunto com produtos químicos (KOPPENHÖFER et al., 2000; 2002; 2003).

Há poucos estudos com nematoides entomopatogênicos, principalmente quanto ao impacto de produtos fitossanitários perante estes microorganismos, porém sabe-se que muitos ingredientes ativos têm ação sinérgica e outros, ação antagônica, podendo influenciar na escolha do produto para controle de determinado inseto-praga e sendo informação importante para incremento do manejo integrado de pragas.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a compatibilidade dos produtos fitossanitários mais utilizados na cultura do cafeeiro com nematoides entomopatogênicos.

2 Material e métodos

Os isolados utilizados foram obtidos do Banco de Entomopatógenos do laboratório de Patologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Após a produção, os isolados foram mantidos em frascos Erlenmeyer, em câmara climatizada sob temperatura de 16°C, em suspensão aquosa.

Para a instalação dos experimentos, a multiplicação foi feita pelo método *in vivo* em larvas do último ínstar de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), provenientes do laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da UFLA.

2.1 Manutenção de *Galleria mellonella*

Para o preparo da dieta (Tabela 2, vide capítulo 2), misturam-se todos os ingredientes. A dieta foi colocada sobre folha de papel, dentro de potes plásticos (14 cm x 14 cm x 05 cm - comprimento, largura e altura, respectivamente) e sobre esse substrato colocadas as posturas realizadas pelos adultos, permitindo que as larvas, ao eclodirem, encontrem facilmente o alimento. Após a passagem das larvas para o estágio pupal, estas foram transferidas para os frascos de vidro (11 cm x 17 cm - diâmetro e altura, respectivamente), contendo no interior papel liso sanfonado para postura.

Completando o ciclo da criação, as posturas foram retiradas e transferidas para os potes plásticos (22 cm x 22 cm x 10 cm - comprimento, largura e altura, respectivamente) com dieta, iniciando nova geração de larvas. A criação foi mantida em sala climatizada a $25\pm 2^{\circ}$ C, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de doze horas, e a manutenção realizada em dias alternados, fazendo-se a limpeza dos recipientes, coleta de posturas e adição de dieta.

2.2 Manutenção dos nematoides

Para a produção *in vivo*, dez larvas de 5º instar de *G. mellonella* foram colocadas em placas de Petri de nove cm de diâmetro contendo papel filtro duplo e as larvas foram inoculadas com aproximadamente 20 Juvenis Infectantes (JI's) /larva e mantidas em câmara climatizada $25\pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de doze horas.

Após um período de dois dias, as larvas mortas foram retiradas e colocadas em câmara seca (placa de Petri com papel filtro) onde permaneceram por cinco dias, também em câmara climatizada, para desenvolvimento dos nematoides e observação da sintomatologia característica da infecção, sendo que as larvas ficam ligeiramente encurvadas e de coloração vermelha acentuada para os nematoides do gênero *Heterorhabditis* e de coloração marrom para nematoides do gênero *Steinernema*.

Em seguida as larvas foram colocadas em Armadilhas de White (White, 1927), que consiste de uma placa de Petri de nove cm de diâmetro com um pedaço de material acrílico fixado no centro da placa, sobre o qual foi colocada uma folha de papel filtro, onde foram depositadas as larvas mortas e já incubadas por cinco dias em câmara seca. A armadilha recebeu ainda cerca de 2 mL de água destilada e a umidade estimulou a saída dos nematoides, que ficaram suspensos na água, de onde foram recolhidos diariamente durante cinco dias (DUTKY, THOMPSON; CANTWELL, 1964).

2.3 Avaliação da compatibilidade de produtos fitossanitários com nematoides entomopatogênicos em laboratório

Foi utilizada metodologia adotada por Negrisoni Jr.; Barbosa e Moino Jr. (2008), seguindo o protocolo IOBC, demonstrada por baixo custo e mais adequada para avaliar a compatibilidade de alguns produtos fitossanitários analisando viabilidade e infectividade dos nematoides.

Os NEP *Heterorhabditis* sp. JPM4 e *Steinernema riobrave*, foram nematoides utilizados durante os experimentos anteriores e observados com maior desempenho de controle contra cigarras-do-cafeeiro (SILVA, 2007).

Para o preparo das soluções inseticidas foi feito o dobro da dose recomendada para um hectare, obtendo-se 100 mL de solução de cada produto para facilitar as alíquotas do experimento. Sendo assim, para cada 1 mL foram adicionados dois mil e quinhentos juvenis infectantes (JIs) em placas de Petri de oito cm de diâmetro num total de quatro mL de nematoides e quatro mL do produto, totalizando 8 mL com 1250 JI cada e mantidos em câmara climática a $25^{\circ}\text{C}\pm 2$, UR de $70\%\pm 10$ e 24h de escotofase para evitar fotodegradação dos produtos fitossanitários.

Após 48h, as placas foram retiradas da câmara climática e feito lavagem da solução nematoide + produto químico e avaliado a viabilidade retirando-se uma alíquota de 0,1 mL e contado o número de nematoides viáveis e inviáveis até chegar a 100 JIs, observados sob microscópio estereoscópico.

Em seguida, para avaliar a infectividade foram utilizadas placas de Petri de oito cm de diâmetro, e colocadas dez lagartas de *G. mellonella*, onde foram aplicados 1,9 mL da solução anterior.

Assim, após dois dias as lagartas mortas foram transferidas para placas de Petri com papel filtro e depois de cinco dias dissecadas todas as lagartas que apresentaram sintomatologia característica, com auxílio de agulha histológica e bisturi.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ($P\leq 0,05$) e os dados analisados pelo programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2008).

Os produtos químicos são comumente utilizados por agricultores da região de Lavras-MG, em lavouras cafeeiras (Tabela 8).

Para estimar o efeito dos produtos fitossanitários em relação aos NEP foi utilizada fórmula seguindo metodologia de Peters e Poullot (2004).

Tabela 8. Lista de produtos fitossanitários (inseticidas, fungicidas e herbicidas) utilizados nos experimentos de compatibilidade.

Nome		Formulação	Classe	Grupo químico	Concentração
Comercial	Ingrediente ativo				
Actara 10 GR®	Tiametoxan	GR	I	Neonicotinóide	10g/Kg
Verdadero 600 WG®	Tiametoxan + Ciproconazole	WG	I/F	Neonicotidóide + triazol	300g/Kg
Premier Plus®	Imidaclopride + Tridimenol	SC	I/F	Neonicotidóide + triazol	175g/L e 735g/L
Impact 125®	Flutriafol	SC	F	Triazol	125g/L
Alto 100®	Ciprononazol	SL	F	Triazol	100g/L
Flumyzin 500®	Flumioxazin	WP	H	Ciclohexenodicarboximida	500g/Kg
Zapp QI®	Glifosato potássico	SL	H	Glicina substituída	620g/L
Sencor 480®	Metribuzin	SC	H	Triazinona	480g/L
Finale®	Glufosinato de amônio	SL	H	Homoalanina substituída	200g/L

Fonte: Seagri, 2011; Seab, 2011.

3 Resultados e discussão

A avaliação foi realizada 48h após instalação do experimento em laboratório.

3.1 Avaliação da compatibilidade de produtos fitossanitários com nematoides entomopatogênicos em laboratório

A viabilidade do nematoide entomopatogênico *Heterorhabditis* sp. JPM4 foi afetada pelos produtos fitossanitários (Tabela 9).

Conforme se observa nessa tabela, o fungicida Impact® foi o mais significativo em relação à mortalidade do nematoide, diminuindo sua viabilidade em 55%, seguido do herbicida Sencor®, inviabilizando 24% dos nematoides.

O inseticida Actara® e o herbicida Finale® foram semelhantes nos valores inviabilizando cerca de 40 e 60% respectivamente.

Os demais produtos químicos não diferiram da testemunha, sendo considerados compatíveis, podendo ser aplicados em conjunto com este NEP (Tabela 9). Andaló et al. (2004) observaram que os herbicidas foram os produtos químicos mais prejudiciais aos NEP quando exposto ao *H. bacteriophora*, tornando inviáveis todos os NEP testados para 2,4D, oxifluorfen e acetoclor.

Entretanto, Tavares *et al.* (2009) não obtiveram diferença significativa entre os tratamentos testados (fipronil, tiametoxan e imidacloprido) para o NEP e *Heterorhabditis indica*. Porém, Negrisoni Jr. Garcia; Negrisoni, (2010) obtiveram resultados negativos para a viabilidade do nematoide *H. indica* perante inseticidas químicos (Turbo® e Karate®).

Para a infectividade dos NEP testados não houve diferença estatística, observando que os nematoides que resistiram ao produto no tempo de exposição não foram afetados, sendo eficientes quando em contato com lagartas *G. mellonella*. Em contrapartida, trabalhos demonstram que os nematoides que sobreviveram aos produtos químicos foram afetados

significativamente na infectividade (ANDALÓ et al., 2004; NEGRISOLI JR. GARCIA; NEGRISOLI, 2010).

Tabela 9. Viabilidade e infectividade de *Heterorhabditis* sp. JPM4 (X±EP) após 48h de exposição aos produtos fitossanitários.

<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM4		
Tratamento	Viabilidade	Infectividade
Actara 10 GR®	62,84±4,35c	80,00±8,94
Verdadero 600 WG®	91,42±0,92a	98,00±2,00
Premier Plus®	92,07±1,71a	88,00±7,35
Impact 125®	45,46±0,65d	76,00±11,22
Alto 100®	89,78±0,93a	86,00±6,78
Flumyzin 500®	93,74±1,19a	90,00±7,75
Zapp QI®	90,84±0,92a	96,00±4,00
Sencor 480®	76,20±3,91b	80,00±13,78
Finale®	59,06±4,51c	92,00±4,90
Testemunha	92,41±0,69a	96,00±2,45

¹ Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo Teste de Tukey (p≤0,05).

A viabilidade do NEP *Steinernema riobrave* foi afetada pelos produtos fitossanitários, sendo mais prejudicada pelo fungicida Alto 100, eliminando 70% dos nematoides, seguido do herbicida Flumyzin com 30% de mortalidade (Tabela 10). Andalo *et al.* (2004) também obtiveram resultados negativos para *S. carpocapsae*, *S. arenarium* e *S. glaseri*, sendo os produtos acetoclor, oxifluorfen e 2,4-D os mais prejudiciais, eliminando todos os nematoides. Para o *Steinernema* sp. IBCB n-6, os inseticidas fipronil, tiametoxan e imidacloprido não afetaram a viabilidade dos nematoides (TAVARES et al., 2009). Os inseticidas Karate® e Turbo® foram mais prejudiciais à viabilidade dos steinernematídeos (*S. carpocapsae* e *S. glaseri*) (NEGRISOLI JR.; GARCIA; NEGRISOLI, 2010).

A infectividade deste nematoide, assim como para o *Heterorhabditis* sp. JPM4 não apresentou diferença estatística, já que não foi afetado por nenhum dos produtos fitossanitários (Tabela 10). Entretanto, alguns produtos fitossanitários afetaram a infectividade destes nematoides além da viabilidade (ANDALÓ et al., 2004; NEGRISOLI JR.; GARCIA; NEGRISOLI, 2010).

Tabela 10. Viabilidade e infectividade de *Steinernema riobrave* (X±EP) após 48h de exposição aos produtos fitossanitários.

<i>Steinernema riobrave</i>		
Tratamento	Viabilidade	Infectividade
Actara 10 GR®	74,50±2,56bc	100,00±0,00
Verdadero 600 WG®	89,90±1,51a	92,00±4,90
Premier Plus®	92,30±1,21a	96,00±4,00
Impact 125®	87,66±1,58ab	98,00±2,00
Alto 100®	30,40±6,68d	98,00±2,00
Flumyzin 500®	72,08±2,10c	100,00±0,00
Zapp QI®	92,60±1,69a	98,00±2,00
Sencor 480®	83,00±3,79abc	92,00±3,74
Finale®	89,00±1,79a	100,00±0,00
Testemunha	95,80±0,49a	100,00±0,00

¹ Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

4 Conclusões

1. Nenhum dos produtos fitossanitários afetaram a infectividade dos nematoides *Heterorhabditis* sp. JPM4 e *Steinernema riobrave*.

2. Os produtos Impact 125® e Alto 100® foram os que mais prejudicaram a viabilidade dos nematoides entomopatogênicos *Heterorhabditis* sp. JPM4 e *Steinernema riobrave*, respectivamente.

5 Referências

- ALVES, S. B.; LOPES, R. B. TAMAI, M. A.; MOINO JUNIOR, A.; ALVES, L. F. A. Compatibilidade de produtos fitossanitários com entomopatógenos em citros. **Laranja**, v. 21, n. 2, p. 295-306, 2000.
- ANDALÓ, V.; MOINO JÚNIOR, A.; SANTA-CECÍLIA, L.V.C. Compatibilidade de nematóides entomopatogênicos com produtos fitossanitários utilizados na cultura do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**, v.28, n. 2, p. 149-158. 2004
- DUTKY, S. R.; THOMPSON, J. V.; CANTWELL, G. E. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. **Journal of Insect Pathology**, v. 6, p. 417-22, 1964.
- FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. Cap. 11. p. 541-67.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, v. 6, n. 2, p. 36-41, 2008.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.
- GARCIA, L. C.; RAETANO, C. G.; LEITE, L. G. Application technology for the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis indica* and *Steinernema* sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) to control *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn. **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 3, p. 305-11, May/Jun. 2008.
- GREWAL, P. S.; NARDO, E. A. B.; AGUILLERA, M. Entomopathogenic nematodes: potencial for exploration and use in South América. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 191-205, apr./june 2001.
- KOPPENHOFER, A. M.; BROWN, I.M.; GAUGLER, R.; GREWAL, P.S.; KAYA, H.K.; KLEINS, M.G. Synergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against White grubs: greenhouse and field evaluation, **Biological Control**, v. 19, p. 245-251, 2000.

- KOPPENHOFER, A. M.; COWLES, R.S.; COWLES, E.A.; FUZY, E.M.; BAUMGARTNER, L. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes, **Biological Control**, n. 24, p. 90-97, 2002.
- KOPPENHÖFER, A. M.; COWLES, R. S.; COWLES, E. A.; FUZY, E. M.; KAYA, H. K. Effect of neonicotinoid synergists on entomopathogenic nematodes fitness. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, n. 106, p. 7-18, 2003.
- NEGRISOLI JR., A. S.; BARBOSA, C. R. C.; MOINO JR., A. Avaliação da compatibilidade de produtos fitossanitários com nematoides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) utilizando o protocolo modificado da IOBC/WPRS. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 32, n. 2, p.111-6, 2008.
- NEGRISOLI JR., A. S.; GARCIA, M. S.; NEGRISOLI, C. R. C. B. Compatibility of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) with registered insecticides for *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. **Crop Protection**, v. 29, n. 6, p. 545-9, Jun. 2010.
- PETERS, A.; POULLOT, D. Side effects of surfactants and pesticides on entomopathogenic nematodes assessed using advanced IOBC guidelines. **IOBC/WPRS Bull.**, v. 27, n. 6, p. 67-72, 2004.
- POLAVARAPU, S., A.M.KOPPENHÖFER., J.D.BARRY., R.J.HOLDCRAFT., E.M.FUZY. Entomopathogenic nematodes and neonicotinoids for remedial control of oriental beetle, *Anomala orientalis* (Coleoptera: Scarabaeidae), in highbush blueberry. **Crop Protection**, v. 26, n. 8, p. 1266-71, Aug. 2007.
- SEAB - Secretaria da agricultura e do Abastecimento do Paraná. 2011. Disponível em: <<http://www.seab.pr.gov.br/>>. Acesso em: 18 mar. 2011.
- SEAGRI - Secretaria da agricultura, irrigação e reforma agrária. 2011. Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br/>>. Acesso em: 18 mar. 2011.
- HAPIRO-ILAN, D.I.; GOUGE, D.H.; PIGGOTT, S.J.; FIFE, J.P. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**, v. 38, n. 1, p. 124-33, Jul. 2006.
- SILVA, M. A. T. **Avaliação de nematoides entomopatogênicos visando o controle da cigarra-do-cafeeiro**. 2007. 49f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

TAVARES, F.M.; BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; ALMEIDA, L. de; GOULART, T.M. Efeitos sinérgicos de combinações entre nematoides entomopatogênicos (Nemata: Rhabditida) e inseticidas químicos na mortalidade de *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: curculionidae). **BioAssay**, v. 4, n. 7, p. 1-10, 2009.

WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, v. 66, n. 1709, p. 302-3, Sep. 1927.